UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

ANNÉE 1948-1949 — N° 16

ÉTUDE PHYSIO-PATHOLOGIQUE DE LA PHOSPHATASÉMIE ACIDE

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

présentée et soutenue publiquement le Vendredi 26 Novembre 1948

PAR

Claude-André-Raymond BÉNAZET

Ancien Externe des Hôpitaux

né à BORDEAUX (Gironde), le 4 Janvier 1923

Examinateurs de la Thèse :

MM. DARGET, professeur ..... *Président*

DUPÉRIÉ, professeur ..... *Juges*

SARIC, agrégé ..... *Juges*

DUBARRY, agrégé ..... *Juges*

BORDEAUX

"IMPRIMERIE GIRONDINE" A.L. COLLEVILLE

143, Rue Georges-Bonnac

1948

BÉNAZET (Claude)

ade Physio-P
hosphatasé
ir

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41536526_0067

UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE

ANNÉE 1948-1949 — N° 16

ÉTUDE PHYSIO-PATHOLOGIQUE DE LA PHOSPHATASÉMIE ACIDE

THÈSE POUR LE DOCTORAT EN MÉDECINE

présentée et soutenue publiquement le Vendredi 26 Novembre 1948

PAR

Claude-André-Raymond BÉNAZET

Ancien Externe des Hôpitaux

né à BORDEAUX (Gironde), le 4 Janvier 1923

Examinateurs de la Thèse :

MM. DARGET, professeur ..... *Président*

DUPÉRIÉ, professeur ..... *Juges*

SARIC, agrégé ..... *Juges*

DUBARRY, agrégé ..... *Juges*

BORDEAUX

"IMPRIMERIE GIRONDINE" A.L. COLLEVILLE

143, Rue Georges-Bonnac

1948

FACULTÉ DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE BORDEAUX

DOYEN : M. DUPÉRIÉ.

ASSESSEUR : M. CHELLE.

PROFESSEURS HONORAIRES :

M. DENIGÈS, A. MANDOUL, PETGES, GUYOT, ROCHER, LANDE, DUVERGEY, CARLES, LEURET, PERY, LABAT, CHARRIER

PROFESSEURS :

	MM.		MM.
Clinique médicale	DUPÉRIÉ.	*Zoologie et parasitologie*	R. SIGALAS.
id.	CREYX.	*Médecine expérimentale*	AUBERTIN.
Clinique chirurg. et gynécol.	MASSÉ.	*Clinique ophtalmologique*	BEAUVIEUX.
Clinique chirurgicale	PAPIN.	*Clinique chirurg. inf. et orthop.*	LOUBAT.
Clinique d'accouchements	RIVIÈRE.	*Clin. des maladies infectieuses*	DAMADE.
Anatomie pathol. et microsc. clin.	DE GRAILLY.	*Chimie biologique et médicale*	MACHEBŒUF.
Anatomie	VILLEMIN.	*Physique méd. et pharmaceutique*	PIFFAULT.
Anatomie générale et histologie	G. DUBREUIL.	*Méd. col. et clin. mal. exotiques*	BONNIN.
Hygiène	PIÉCHAUD.	*Clin. malad. cutanées et syphilit.*	JOULIA.
Médecine légale et déontologie	DERVILLÉE.	*Clin. des mal. des voies urinaires*	DARGET.
Electroradiol. et clin. d'élect. médic.	REBOUL.	*Clin. mal. nerveuses et mentales*	DELMAS-MARSALET.
Chimie	CHELLE.	*Clin. d'oto-rhino-laryngologie*	PORTMANN.
Botanique et matière médicale	GOLSE.	*Toxicologie et hygiène appliquée*	CASTAGNOU.
Pharmacie	VITTE.	*Clinique odonto-stomatologique*	DUBECQ.
Physiologie	FABRE.	*Clin. méd. des mal. des enfants*	FONTAN.

PROFESSEUR A TITRE PERSONNEL

M. GIRARD.

PROFESSEURS SANS CHAIRE :

PERRENS (*Maladies mentales*). DUFOUR (*Anatomie*). MESNARD (*Pharmacie*).

MAITRE DE CONFERENCES :

M. BLANQUET (*Physique pharmaceutique*).

AGREGES EN EXERCICE :

	MM.		MM.
Anatomie	N...	*Obstétrique*	N..
Physiologie	N...	*id.*	MAHON.
Médecine générale	BROUSTET.	*Ophtalmologie*	BESSIÈRE.
id.	SARIC.	*Oto-rhino-laryngologie*	DESPONS.
id.	DUBARRY.	*Dermatologie et syphiligraphie*	LE COULANT.
id.	J. TRAISSAC.	*Histologie*	MAYER.
id.	BERGOUIGNAN.	*Physique médicale*	N...
Chirurgie générale	N...	*Chimie générale pharm. et toxicol.*	N...
id.	MAGENDIE.	*Histoire natur. pharmaceutique*	N...
id.	POUYANNE.	*Pédiatrie et puériculture*	VERGER.
id.	LAUMONIER.	*Médecine légale et médecine du trav.*	L'EPEE.
id.	CHAVANNAZ.	*Electro-Radiologie*	LACHAPELE.
Chimie médicale	TAYEAU.	*Odonto-Stomatologie*	MARONNEAUD.

COURS COMPLEMENTAIRES :

	MM.		MM.
Médecine opératoire	N...	*Chimie minérale*	N...
Accouchements	N...	*Botanique*	GIRARD.
Puériculture	VERGER. CHASTRUSSE.	*Cryptogamie*	GIRARD.
Urologie	N...	*Pharmacie galénique*	MESNARD.
Législation pharmaceutique	POPLAWSKI.	*Bactériologie*	MOUREAU.
Ophtalmologie	N...	*Physiologie*	Mlle ROUGIER.
Anatomie	RIGAUD.	*Chimie biologique*	N...
		Parasitologie et biologie appliquée	PAUTRIZEL.
		Pathologie chirurgicale	LAUMONIER.

Le Secrétaire de la Faculté : ROUGERIE.

Par délibération du 5 août 1879, la Faculté a arrêté que les opinions émises dans les Thèses qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle entend ne leur donner ni approbation ni improbation.

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

A MA GRAND MERE.

En te dédiant cette thèse, j'ai rêvé que ta joie, aujourd'hui, récompenserait ton indicible bonté pour moi.

Dans l'espoir d'être un peu celui qui n'est plus.

A MA MERE, A MON PERE.

Au seuil de ma carrière médicale, un regard en arrière me fait suivre, étape par étape, le chemin parcouru.

Je vous dois tout. Trouvez ici le faible témoignage de ma tendresse et de ma reconnaissance.

A MA SŒUR.

Avec toute l'affection du grand frère aîné.

A MA FIANCEE.

En gage de mon profond amour.

Puisse la vie nous tenir à jamais au plus près l'un de l'autre.

A MA MARRAINE, MADAME R. COEN.

Que cet ouvrage soit pour vous l'expression de mon immense gratitude.

A MES FUTURS BEAUX-PARENTS.

A TOUS LES MIENS, A MES AMIS.

A MES MAITRES DE L'HOPITAL ET DE LA FACULTE

Stages

1941 : Monsieur le Docteur Boisserie-Lacroix (*in memoriam*).

Monsieur le Professeur Dufour.

1942 : Monsieur le Professeur Papin.

Externat provisoire

1942 : Monsieur le Professeur Despons.

1943 : Monsieur le Professeur Dupérié.

Externat

1944 : Monsieur le Docteur Chavannaz.

1945 : Monsieur le Professeur Darget.

1946-1947 : Monsieur le Professeur Dupérié.

1948 : Monsieur le Docteur Servantie.

A MES JUGES.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ SARIC

Médecin des Hôpitaux.

Très modeste gage de respect.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR AGREGE DUBARRY.

Médecin des Hôpitaux,
Membre Correspondant de la Société de Gastro-Entérologie.

Vos conseils furent et seront toujours pour moi des guides précieux.

A MON MAITRE, MONSIEUR LE PROFESSEUR DUPÉRIÉ

Doyen de la Faculté de Médecine et de Pharmacie de Bordeaux,
Professeur de Clinique Médicale,
Médecin des Hôpitaux,
Chevalier de la Légion d'Honneur,
Chevalier de l'Ordre de la Santé,
Officier de l'Instruction Publique.

Les mois vécus dans votre Service, Monsieur le Doyen, sont passés trop vite. Ma pensée gardera toujours le souvenir que c'est à vous que je dois ma véritable initiation médicale.

A MON MAITRE ET PRESIDENT DE THESE

MONSIEUR LE PROFESSEUR R. DARGET.

Professeur de Clinique des Maladies des Voies Urinaires,
Chirurgien des Hôpitaux,
Chevalier de la Légion d'Honneur,
Croix de Guerre,
Officier d'Académie.

En respectueuse admiration.

Je vous remercie, mon cher Maître, de l'honneur que vous m'avez fait en acceptant de présider cette thèse.

AVANT-PROPOS

Externe au Laboratoire de Biologie de l'Hôpital Saint-André, notre attention avait été attirée par les difficultés que présentait le dosage de la phosphatase acide par la méthode de Bodansky. D'autre part, la littérature médicale anglo-saxonne souligne l'importance grandissante du nombre de cas de cancers prostatiques passés inaperçus faute d'un diagnostic précoce.

Aux Etats-Unis, Creevy (57), dans un tout récent article, ne va-t-il pas jusqu'à citer le cancer de la prostate comme la cause de 15 à 20.000 morts par an, ce qui correspondrait à environ 5 % des morts chez l'homme après l'âge de 50 ans. Comme la longévité augmente, le nombre de morts par cancer de la prostate augmente et doit augmenter encore plus.

Au nombre des données paracliniques étayant le diagnostic des cancers de la prostate, il semble que l'étude de la phosphatasémie acide ait acquis une valeur diagnostique considérable.

C'est sur les conseils et la direction du Docteur Servantie que nous avons entrepris, au Laboratoire de Biologie de l'Hôpital Saint-André, l'étude et, surtout, l'application du dosage des phosphatases du sérum humain.

Que le Docteur Servantie veuille bien trouver ici toute notre gratitude pour la bienveillance avec laquelle il a mis à notre portée ses profondes connaissances dans le domaine de la biologie et sa documentation.

Le Docteur Blanchot, Chirurgien des Hôpitaux, a bien

voulu s'intéresser à nos travaux, en nous autorisant largement à pratiquer des dosages chez les malades de sa clientèle privée et ceux de son service hospitalier. Que cette thèse soit pour lui un témoignage de reconnaissance.

Miss Freda Herbert, au Royal-Victoria-Infirmary, de Newcastle-Upon-Tyne, nous permettra de la remercier pour la documentation originale qu'elle nous a fait parvenir par l'intermédiaire du Docteur Servantie, et qui aura servi de base à notre propre étude.

Que Sœur Anne-Marie soit persuadée de la vive reconnaissance que nous éprouvons pour les conseils et les encouragements qu'elle ne nous a point ménagés.

Nous remercions enfin nos camarades du Laboratoire et de l'Hôpital Saint-André pour l'aide qu'ils nous ont apportée.

ETUDE PHYSIO-PATHOLOGIQUE

DE LA

PHOSPHATASÉMIE ACIDE

INTRODUCTION

En nous inspirant des directives du Docteur Servantié, nous nous proposons ici de mettre en relief un dosage aussi sûr et aussi spécifique que possible des phosphatases sériques, surtout de la phosphatase acide pour laquelle, jusqu'ici, les différentes méthodes employées péchaient par défaut. Nous espérons montrer la valeur de l'inhibition par le formol, spécifique de la phosphatase acide d'origine prostatique. Auprès des cliniciens, nous nous excusons de l'aridité de ce qui constituera la première partie de notre étude.

Dans la seconde partie, nous avons cherché à mettre en évidence l'existence d'une hyperphosphatasémie acide dans un certain nombre de cas d'affections hépatiques. Notre attention avait été en effet attirée par un article, qui a servi de base à notre propre étude, où Miss Freda Herbert signale une hyperphosphatasémie d'origine non

prostatique dans des cas d'hépatite (11). Nos dosages ne nous permettent pas de confirmer ce fait.

Dans une troisième partie, nous nous efforcerons de montrer l'avantage des dosages couplés, phosphatase acide-phosphatase alcaline, pour contribuer à l'édification du diagnostic du cancer de la prostate, compliqué ou non de métastase osseuse, et pour suivre l'action de la thérapeutique appliquée à cette affection.

Enfin notre conclusion apportera, nous osons l'espérer, quelque clarté à cette question aussi complexe et d'ailleurs en pleine évolution, qu'est l'étude biologique des enzymes en général et des phosphatases en particulier.

CHAPITRE PREMIER

QUELQUES GENERALITES

Historique.

C'est en 1923 que Robison (3), isolant une phosphatase sous le nom d' « enzyme de l'os », démontra sa participation à l'ossification. En réalité, l'existence des phosphatases avait été mise en évidence dès 1907, par Suzuki, Yoshimura et Takaishi (32), puis par Mac Collum et Hart.

Depuis Robison, de nombreux auteurs, parmi lesquels il faut citer Kay (33), Oppenheimer, Pautrat, Roche, Schäffner, Servantie (38-38bis) se sont attachés à ces études.

Bodansky, Kay, Cayla, Roberts (34-35), et à une époque récente King, F. Herbert, Bessey ont laissé leur nom à des techniques de dosage.

Enfin, un grand nombre d'auteurs ont publié des articles originaux sur les phosphatases.

Définition.

Malgré cette somme de travail, dans l'ignorance où nous sommes de la constitution des phosphatases, des conditions de leur action dans les cellules et les humeurs, force nous est de définir les phosphatases « comme les enzymes libérant des ions phosphoriques à partir de divers substrats naturels ou synthétiques ayant pour base un phosphate » (1).

Classification.

Il est donc logique de classer momentanément les phosphatases d'après le substrat auquel elle s'attaque :

Soit mono ou diesters de l'acide orthophosphorique ou son amide;

Soit esters de l'acide pyrophosphorique;

Soit encore aux différentes combinaisons de l'acide

phosphorique avec l'adenine, la choline, le fructose, etc...

Le tableau suivant, dû à MM. Courtois et Roche (1), donnera une idée du nombre des phosphatases.

NOM DE L'ENZYME	SUBSTRAT ou TYPE DE SUBSTRAT	SOURCES HUMAINES PRINCIPALES
A) **Phosphatases Spécifiques d'une Liaison**		
Phosphomonoestérases	Monoesters de l'acide orthophosphorique : $O=P\begin{cases}-O-R\\-OH\\-OH\end{cases}$	**Foie, prostate** os, rein, **sérum**
Phosphodiestérases . . .	Diesters de l'acide orthophosphorique : $O=P\begin{cases}-O-R\\-O-R'\\-OH\end{cases}$	Foie, rein
Pyrophosphatases	Sels et esters de l'acide pyrophosphorique : $O=P\begin{cases}-OH\\-O-P=O\\-OR\end{cases}\quad\begin{cases}-OH\\-OH\end{cases}$ R = radical alcool ou phénol	Foie, rein, intestin, hématies
Phosphoamidases	Amides de l'acide orthophosphorique : $O=P\begin{cases}-OH\\-O-NHR\\-OH\end{cases}$	Rein
B) **Phosphatases Spécifiques d'un Substrat ou d'un petit groupe de Substrats**		
Adénylpyrophosphatase	Acide adénylpyrophosphorique	Foie, intestin, os
Cholinephosphatase . .	Diester choline (ou colamine) — glycerophosphorique	Foie, intestin
Hexosediphosphatase .	Acide fructosediphosphorine	Foie, rein
Metaphosphatase	Acide metaphosphorique PO 3 H	Foie, rein
5—Nucleotidase	Acide nucleotide-5-phosphorique	Testicules, nerfs
Polynucleotidase	Acides nucleiques (tetranucleotides et polymères)	Intestin, pancréas
Polyphosphatase	Acide triphosphorique et homologues supérieurs.	Intestin
Phytase	Acide inositohexaphosphorique	Rein, hématies

TABLEAU I

SPÉCIFICITÉ ET PRINCIPALES LOCALISATIONS CHEZ L'HOMME DES DIVERS TYPES DE PHOSPHATASES

Notre étude se bornera aux seules phosphatases du type phosphomonoestérases.

Isodynamie.

Sous le nom d'isodynamie on désigne l'action identique qu'ont des enzymes, de structure probablement proche, à des pH différents in vitro. C'est ainsi qu'il existe quatre phosphomonoestérases isodynames, qui agissent à des pH optimum respectivement de 8,2, 6,2, 5,4, 4,2.

Seule la phosphatase agissant au-dessus de la neutralité et celle dont le pH optimum est de 5,4, retiendront notre attention. Car ce sont elles que l'on trouve en quantités suffisantes dans le sérum pour pouvoir être dosées par les différentes méthodes proposées par les auteurs.

Nous désignerons par phosphatase alcaline la phosphomonoestérase agissant au pH optimum de 8,2, et par phosphatase acide celle dont le pH optimum d'action correspond à 5,4.

Effecteurs.

Des corps chimiques, en général des ions métalliques, agissent d'une manière élective sur certains enzymes, soit en retardant ou inhibant leur action, ce sont des inhibiteurs, soit en augmentant ou précipitant leur action, ce sont des accélérateurs.

Inhibiteurs ou accélérateurs sont désignés sous le nom générique d'effecteurs.

La question des effecteurs est de la plus grande importance dans l'étude des enzymes en général. Elle n'a été, à notre connaissance et tout récemment, que partiellement effleurée au sujet des phosphatases. Nous montrerons plus loin ce que nous pensons de ces études particulières (2).

Il semble bien, cependant, que l'ion Zn^{++} surtout et, pour une moins grande part, l'ion Mg^{++}, aient une influence sur l'action des phosphatases. Il en serait de même pour certaines protéines (11).

CHAPITRE II

LES METHODES DE DOSAGE

Principe général.

La technique repose sur une réaction biologique.

On met en présence le sérum humain contenant les phosphatases avec un substrat phosphaté, soit un glycérophosphate, soit phénylphosphate. On y adjoint un tampon fixé au pH convenable pour la phosphatase cherchée. Il est évident qu'un des substrats naturels des phosphatases étant un hexosephosphate, la valeur obtenue pour le dosage de la phosphatasémie est artificielle.

L'action de la phosphatase va consister en une hydrolyse du substrat avec libération des constituants de ce dernier, phosphate d'une part, glycérol ou phénol d'autre part.

Pour se rapprocher des conditions naturelles, l'action se passera à l'étude à 37° pendant un temps déterminé.

Suivant les méthodes, on dosera soit les phosphates libérés, soit le glycérol ou le phénol. On dosera aussi dans des tubes témoins les phosphates ou le phénol naturels du sérum étudié.

Une réaction colorimétrique quantitative permettra de chiffrer ces résultats vis-à-vis d'une solution étalon fixe. La différence entre phosphates ou phénols libérés par

action des phosphatases et ceux existants normalement dans le sérum, permettra de chiffrer l'activité phosphatasique du sérum étudié en unités arbitrairement choisies. Ces unités sont d'ailleurs différentes suivant les méthodes employées. Il n'existe de correspondance qu'entre les unités King et les unités Bodansky (rapport 3,3 à 3,5). Ce principe sert de base à tous les dosages de phosphatases.

Au sujet de la phosphatase acide, l'idée de départ vient de Gutman et Gutman (26-27).

Principe des méthodes en particulier.

L'étude complète en serait fastidieuse. Nous nous bornerons simplement à en indiquer le principe et les sources d'erreur, nous réservant de décrire entièrement la méthode de King que nous avons adoptée.

1° *Méthode de Bodansky* (5-6).

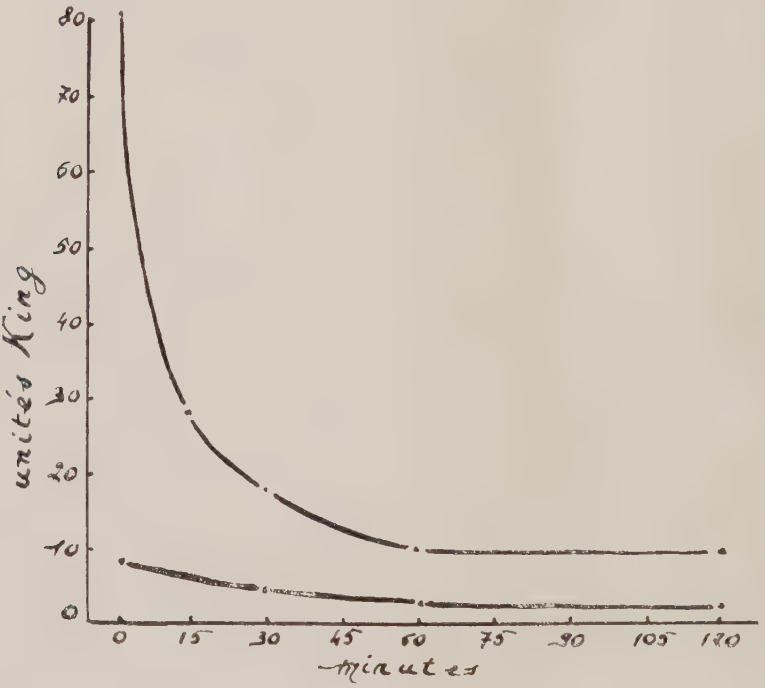
Le substrat en est le bêta-glycérophosphate de sodium, les tampons une solution de véronal sodique à laquelle on peut donner des pH différents suivant la technique de Michaelis (7). Le pH du tampon alcalin est fixé à 9,2. L'incubation au bain marie à 37° dure trois heures pour la recherche de la phosphatase alcaline, et vingt-quatre heures pour la phosphatase acide. Du chlorure stanneux réduit un complexe molybdo-molybdique proportionnellement aux phosphates libérés, en donnant au mélange une coloration bleue quantitative comparable au colorimètre, à un étalon.

Cette technique, adaptée par de nombreux auteurs (8-9), a été jusqu'ici très largement employée (10).

Elle est cependant sujette à des erreurs graves au sujet de la phosphatase acide, pour laquelle elle donne des résultats incertains.

En effet, le temps d'incubation est de vingt-quatre heures. Or, comme l'établit Miss Herbert (11), les phosphatases sont hydrolysées et détruites dès la sortie du courant

sanguin naturel. Même une centrifugation soigneuse, douce et complète, même la température du frigidaire (0°4°) ne peut les conserver. A plus forte raison à la température de 37° sont-elles, dans la méthode de Bodansky, détruites avant d'avoir produit leur effet.



(Fig. 1).

Temps d'inactivation de la phosphatase acide, incubé dans un sérum à 37° (*).

La courbe ci-contre entraîne quelques réflexions, on voit que plus le sérum contient d'unités, plus la destruction est rapide.

Comme le pense Miss Herbert, le même rythme de destruction est probablement suivi « in vivo ».

(*) Les figures 1 et 3 sont empruntées à Miss Herbert (11).

Si nous supposons un sérum contenant 80 unités King de phosphatase acide, la prostate doit être obligée de déverser dans le torrent sanguin 200 u. K. par 100 cc. de sérum et par heure. Cette hypothèse ne doit pas surprendre. Car, comme nous le verrons plus loin, le jus de tissu prostatique peut contenir 600.000 u. K. par 100 cc. Il serait suffisant, dans le cas précédent, que 1 cc. de jus prostatique soit déversé dans le sang toutes les heures.

2° *Méthode de King* (12).

Mise en évidence pour la première fois par Gutman et Gutman, en 1936 (27), complétée par la suite par King, cette technique a apporté un gros progrès aux dosages des phosphatases. Le substrat en est le phénylphosphate disodique. Les tampons, différents pour les deux phosphatases, sont fixés respectivement aux pH de 8,4 et 4.95. Le temps d'incubation est de un quart d'heure pour la phosphatase alcaline, une heure pour l'acide. On dose, cette fois-ci, le phénol libéré, qui réduit le complexe molybo-molybdique du réactif de Follin et Ciocalteau employé, et une solution alcaline de carbonate de sodium fait apparaître une couleur bleue quantitative comparée au colorimètre avec une solution étalon.

Ici, grâce au temps d'incubation réduit, grâce à l'emploi de deux tampons bien fixés, les principales sources d'erreurs sont éliminées.

3° *Méthode de Herbert* (11).

En gros, Miss Freda Herbert se sert de la méthode de King, à laquelle elle a apporté quelques changements. Elle part, comme substrat, du phénylphosphate monosodique et son tampon acide contient des doses d'acide citrique légèrement différentes avec un pH fixé à 4,90 par une quantité importante d'acide chlorhydrique.

Pour notre part, il nous a paru qu'il y avait intérêt à limiter l'introduction dans le tampon d'un acide fort tel

que l'acide chlorhydrique, car ce tampon ainsi préparé a tendance à déplacer les phosphates du substrat et à fausser ainsi les résultats.

Le reste de la méthode d'Herbert est absolument identique à celle de King.

4° *Méthode de Bessay* (4).

Ce dernier part d'un substrat à base de para-nitrophénylphosphate de sodium étudié d'ailleurs avant lui (13, 14 et 15). On dose le nitrophénol libéré par fixation sur du chlorure de manganèse en présence de glycérol, qui donne une coloration jaune quantitative, vis-à-vis d'une solution d'étalon, au colorimètre, ou mieux, à l'électrophotomètre. Le tout est tamponné convenablement.

Cette méthode présente l'énorme avantage de pouvoir se pratiquer à partir de cinq centièmes de centicube de sérum prélevés à l'aide d'une micropipette spéciale, au lobe de l'oreille du patient. Si l'on se place du point de vue de ce dernier, la méthode de Bessay devrait l'emporter de haute main. De plus, une série de 100 microanalyses peut se pratiquer en deux heures.

Malheureusement, lorsqu'après des formalités administratives complexes, nous voulûmes nous procurer le para-nitrophénylphosphate à la Eastman Kodak Company, cette firme nous répondit que se présentaient pour sa fabrication des difficultés telles, qu'elle n'envisageait pas de production commerciale dans le présent et même dans le proche avenir. D'autre part, à notre connaissance, aucune autre firme, française ou étrangère, ne prépare ce produit.

Force nous fut donc d'abandonner la méthode de Bessay.

5° *Méthode de Huggins et Talalay* (25), *à la phénolphtaleinephosphate de sodium.*

6° *Causes d'erreurs communes à toutes ces méthodes.*

Une première cause d'erreur est due à la présence de

quantités importantes de phosphatase acide au niveau des hématies. Il faut donc pratiquer une centrifugation du sang soignée et peu brutale (pas plus de 3.000 tours à la minute). D'autre part, on ne pourra pas pratiquer le dosage de phosphatase acide sur un sang hémolysé.

Une autre source d'erreur tient à la fragilité des phosphatases que leur présence, in vitro, même à la température du frigidaire, hydrolyse d'une manière importante. On admet (11) que, d'une manière générale, il vaut mieux doser les phosphatases avant la sixième heure qui suit la prise de sang, celui-ci étant centrifugé le plus tôt possible et maintenu au frigidaire jusqu'au dosage.

Enfin une dernière cause d'erreur réside dans le fait que des germes parasites et des moisissures se développent à la surface des solutions tampons surtout acides (16). La température du frigidaire ne peut les éviter. Ces germes sécrètent probablement à leur tour, entre autres substances, des phosphatases qui viennent apporter un trouble profond au résultat du dosage.

On peut en retarder la pullulation par l'addition à la solution tampon de quelques gouttes de chloroforme (12). Mais cette mesure ne suffit pas et le contrôle des tampons surtout acide s'impose (environ tous les quinze jours). Un tampon pollué doit être rejeté et une solution identique reproduite (16).

CHAPITRE III

CHOIX DE LA METHODE DE KING

Les paragraphes précédents indiquent d'une manière suffisamment explicite les raisons de notre choix. Il a été dicté par les idées :

1° De limiter autant que possible les grosses causes d'erreurs telles que le temps d'incubation trop long;

2° De pratiquer une méthode simple et relativement courte permettant, dans une certaine mesure, des dosages en série (cinq ou six dosages peuvent être faits en deux heures).

3° De pouvoir doser la phosphatase acide d'une manière à peu près certaine.

En effet, Bessay (4), et après lui Hudson (30) et Andersh et Szcypinski (31), remarquent que le pH optimum d'action phosphatasique varie essentiellement avec le substrat. Or, il y a tout intérêt à se rapprocher le plus possible du pH du sérum humain et, par conséquent, à utiliser des substrats qui permettent ce rapprochement.

C'est ainsi que le para-nitrophénylphosphate ou, à défaut, le mono ou diphénylphosphate autorisent un pH de 8,2-8,4 alors que le glycérophosphate n'est convenablement hydrolysé qu'au pH de 9.

Aussi nous sommes-nous rangés, à défaut de la méthode de Bessay, du côté de celle de King.

CHAPITRE IV

LA METHODE DE KING (12)

Prise du sang.

Quatre ou cinq centicubes de sang sont pris par ponction veineuse et placés dans un tube sans adjonction d'anticoagulant.

Bien que la prise des repas amène une légère diminution de la phosphatase sérique alcaline chez certains sujets, il n'y a pas lieu de tenir compte, pour la prise de sang, de l'ingestion des repas ou du jeûne. Le sang pourra donc être prélevé à n'importe quel moment de la journée (4) (contrairement à ce qui se passe pour d'autres représentants du règne animal (6, 17, 18).

Le sang sera centrifugé le plus vite possible, à 3.000 tours par minute, le sérum, séparé des hématies, est conservé à la glacière pendant six heures au plus si on veut différer le dosage.

Réactifs.

1° *Tampons.*

Tampon carbonate-bicarbonate de sodium M/10, pour le dosage de la phosphatase alcaline (pH = 8,4) : dissoudre dans de l'eau 6,36 gr. de carbonate de sodium anhydre et 3,36 gr. de bicarbonate de sodium. Compléter à un litre. Ajouter quelques gouttes de chloroforme. Mettre en flacon bouché au frigidaire. Se conserve bien, en général. A contrôler de temps en temps.

Tampon acide citrique-citrate de sodium, pour dosage de la phosphatase acide (pH = 4,9) : dissoudre 21 gr. d'acide citrique cristallisé dans de l'eau. Ajouter 188 cc.

de soude N et compléter à 500 cc. Ajouter quelques gouttes de chloroforme. Bien boucher et porter au frigidaire. Se conserve moins bien que le tampon alcalin. A contrôler souvent (tous les huit ou quinze jours).

2° *Substrats.*

C'est une solution de phénylphosphate disodique M/100. Dissoudre 2,18 gr. de phénylphosphate disodique dans un litre d'eau distillée. Porter rapidement cette solution à l'ébullition pour détruire les quelques organismes y existant. Refroidir immédiatement. Ajouter quelques gouttes de chloroforme. Se conserve bien à la glacière.

3° *Solution de carbonate de sodium à* 25 %.

25 gr. de carbonate de sodium anhydre sont dissous dans de l'eau chaude. On complète à 100 cc. Cette solution est mise en réserve en un endroit relativement chaud (18-25°), sinon le carbonate tend à cristalliser.

4° *Réactif de Follin et Ciocalteau.* (*)

Ce réactif est déjà connu. Sa préparation se trouve dans de nombreux articles (19, 20, 21). Ce réactif, dans la méthode de King, est dilué au tiers.

5° *Solution étalon de Phénol* (100 mmgr. pour 100 cc.).

1 gr. de phénol pur cristallisé est dissout dans de l'eau distillée. On complète à un litre avec de l'acide chlorydrique N/10.

6° *Solution étalon de phénol avec réactif.*

On mesure 5 cc. de la solution étalon de phénol

(*) Le réactif de Follin et Ciocalteau se prépare ainsi : mettre dans un ballon pyrex à col rodé, 20 gr. de tungstate de sodium, 5 gr. de molybdate de sodium et 140 cc. d'eau distillée. Ajouter 10 cc. d'acide phosphorique de densité D = 1,75 (12 cc. si acide phosphorique à 85°), et 20 cc. d'acide chlorhydrique pur.

Adapter au col rodé du ballon un condenseur à reflux, rodé lui aussi. Faire bouillir pendant 10 heures.

Laisser refroidir spontanément, ajouter 30 gr. de sulfate de lithium. Bien dissoudre à froid et filtrer.

Le réactif est d'un beau jaune. S'il devient verdâtre, il est mauvais.

(100 mmgr. pour 100 cc.) dans un ballon jaugé de 500 cc. On y ajoute 100 cc. de réactif Follin et Ciocalteau dilué au tiers, et on complète à 500 cc. avec de l'eau distillée. Cette solution se conserve six mois si on l'a mise à la glacière.

Technique.

Sauf au sujet du temps d'incubation à l'étuve et au sujet des tampons, la technique est la même, que ce soit pour le dosage de la phosphatase alcaline ou de la phosphatase acide.

1° *Sérum à doser et témoins.*

Dans deux tubes coniques à centrifuger on place 2 cc. de substrat dans chacun, et 2 cc. de tampon alcalin dans l'un, 2 cc. de tampon acide dans l'autre. Ces deux tubes sont placés trois minutes au bain-marie à 37°. Au bout de ces trois minutes, sans sortir les tubes du bain-marie, on ajoute à chacun des deux 0,2 cc. de sérum. Ces tubes sont bouchés et laissés au bain-marie quinze minutes pour le tube au tampon alcalin, une heure pour celui au tampon acide.

En même temps deux tubes, qui serviront de témoin, sont préparés de la même manière, mais sans recevoir de sérum. Eux aussi sont placés au bain-marie à 37° après avoir été bouchés.

Au bout de quinze minutes, on retire les deux tubes contenant le tampon alcalin, l'un ayant du sérum, l'autre étant le témoin. Dans le témoin on ajoute alors 0,2 cc. de sérum.

(') Sans attendre, on ajoute alors à chacun de ces deux tubes 1,8 cc. de réactif de Follin et Ciocalteau au tiers. Le mélange se colore légèrement en jaune et les protéines précipitent.

On centrifuge à 3.000 tours minute.

On prélève 4 cc. du liquide surnageant auxquels on

ajoute 1 cc. de la solution de carbonate de sodium à 25 %.

Une coloration bleue quantitative se manifeste lentement. Après un quart d'heure, elle est visible.

Au bout d'une heure d'immersion dans le bain-marie à 37°, les deux tubes contenant le tampon acide, l'un ayant du sérum, l'autre servant de témoin, sont retirés du bain. Au témoin on ajoute 0,2 cc. de sérum et les tubes subissent alors un traitement identique aux tubes à tampon alcalin (').

2° *Etalon.*

A 4 cc. de la solution étalon avec réactif on ajoute 1 cc.

TABLEAU 2.— SCHÉMA DE LA TECHNIQUE DE DOSAGE (*)

	PHOSPHATASE ALCALINE		PHOSPHATASE ACIDE		ÉTALON	CONTROLE
	SÉRUM A DOSER	TÉMOIN	SÉRUM A DOSER	TÉMOIN		
Tubes à centrifuger.	1	2	3	4	5	6
Tampon alcalin...	2 cc	2 cc				
Tampon acide....			2 cc	2 cc		2 cc
Substrat.....	2	2	2	2		2
Bain-Marie à 37° 3 minutes						
Sérum.....	0,2		0,2			
Boucher Mélanger						
Bain-Marie à 37° 15 minutes			1 heure			
Sérum.....		0,2		0,2		
Réactif Follin et Ciocalteau 1/3.	1,8	1,8	1,8	1,8		1,8
Secouer, Mélanger, Centrifuger 3000 tours/minute						
Etalon-Réactif....					4 cc	
CO^3Na^2 à 25 °/o.	1	1	1	1	1	1

(*) La colonne de droite ne sert que dans les cas où on veut contrôler une solution tampon ou un substrat.

de la solution de carbonate. La couleur bleue se développe lentement.

Calculs.

Les résultats sont exprimés en unités arbitraires d'activité phosphatasique.

L'unité King de phosphatase est définie comme la quantité de l'enzyme qui libérera 1 mmgr. de phénol dans un temps donné et dans les conditions types (12).

Le nombre d'unités par 100 cc. de sérum est égal au nombre de milligrammes de phénol libérés du phénylphosphate, dans les conditions types, moins le nombre de milligrammes de phénol naturel trouvés dans le témoin.

Les solutions sont comparées au colorimètre avec l'étalon préparé. La solution à doser est placée à gauche. L'étalon à droite. Les couleurs sont accordées. (L'emploi d'un filtre orange ou rouge facilitera la lecture, surtout pour les colorations faibles.)

Le nombre de milligrammes de phénol dans 100 cc. de sérum à doser et dans le témoin est donné par l'équation :

$$\frac{\text{Lecture de l'étalon}}{\text{Lecture du sérum dosé}} \times \text{coefficient de l'étalon} \times \frac{6}{4} \times \frac{100}{0{,}2}$$

Si nous fixons la solution inconnue à 30 mm. et si le coefficient de l'étalon est à 0,04 mmgr., cette équation peut s'écrire :

$$\frac{\text{Lecture de l'étalon}}{30} \times 0{,}04 \times \frac{6}{4} \times \frac{100}{0{,}2}$$

Les parties de l'équation s'annulent. Ce faisant, la lecture de la solution inconnue est égale à celle de l'étalon.

Dans le cas où l'intensité de la coloration de la solution inconnue est supérieure à celle de l'étalon, il convient de

fixer la solution inconnue à 10 mm. La lecture de l'étalon × 3 donne celle de la solution inconnue.

Résultats.

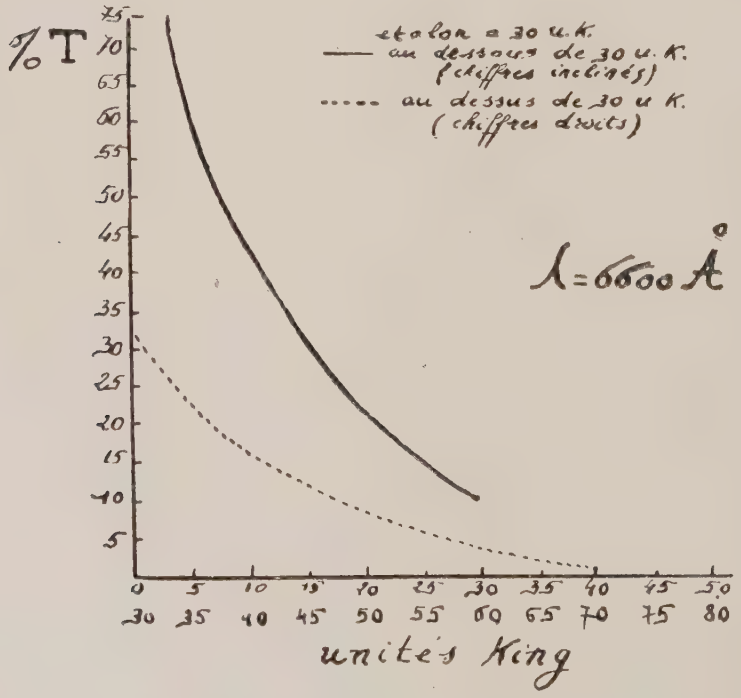
Dans un sérum normal on trouve :

Pour la phosphatase alcaline, 5-10 unités King.

Pour la phosphatase acide, 3-5 unités King.

Application de l'électrophotométrie.

On prépare une série de dilution de la solution standard étalon. On ajoute à 4 cc. de chaque dilution 1 cc. de carbonate de sodium dans les conditions mêmes de la préparation de l'étalon employées dans la méthode de King. On calcule au colorimètre les valeurs en unités King de chaque dilution.



(Fig. 2).

Courbe d'étalonnage de l'électrophotomètre pour la méthode King.

Dans un second temps on calcule à l'électrophotomètre le pourcentage de transmission lumineuse de chacune de ces dilutions.

Il ne reste plus qu'à dresser une courbe portant en abscisse les unités King, en ordonnée le pourcentage de transmission lumineuse.

On obtient la courbe ci-contre.

(Nous nous sommes servi de l'électrophotomètre de Coleman.)

Réflexions sur la méthode de King.

1° *Fixité de la coloration une fois développée.*

Nous avons essayé d'étudier la fixité de la coloration bleue d'abord en contrôlant, dans le temps, le nombre d'unités King fournies au colorimètre par des solutions représentant soit des étalons, soit des dosages de phosphatases acide ou alcaline. La comparaison avec les chiffres initiaux a été faite après douze heures, vingt-quatre heures, trente-six heures, quarante-huit heures et six jours.

Dans tous les cas, le résultat obtenu après les laps de temps ci-dessus a été identique au chiffre initial.

Nous avons d'autre part contrôlé, les mêmes solutions, dans les mêmes conditions à l'électrophotomètre. Là aussi résultats identiques.

Ces faits prouvent une parfaite tenue de la coloration bleue. Il se peut cependant qu'à la longue, la coloration de l'étalon subisse une diminution d'intensité. C'est pourquoi, pour la lecture au colorifère, il est bon de refaire chaque fois l'étalon coloré. Ce qui demande un minimum de temps.

2° *Fidélité quantitative de la coloration vis à vis du taux du phénol.*

Nous avons essayé de doser les phénols libérés par la

technique de Theis et Bénédict (23) (application de la méthode de Moir pour le dosage des phénols à partir de la para-nitroaniline en présence de nitrite de sodium).

Les échecs de cette méthode sont nombreux. Cependant dans la majorité des cas nous avons obtenu un résultat concordant étroitement avec celui donné par la méthode de King.

3° *Apparition de la coloration bleue.*

La coloration définitive apparaît lentement. La lenteur de l'apparition semble être en raison directe de l'acidité du milieu.

En effet, l'étalon qui se trouve en milieu très acide, puisqu'il est dilué dans l'acide chlorhydrique, voit sa coloration bleue se manifester seulement de vingt à vingt-cinq minutes après l'addition d'une solution à 25 % de carbonnate de sodium. La coloration bleue dans le tube de la phosphatase acide, où le tampon donne un pH de 4,9, est lisible au colorimètre seulement trois-quart d'heure après l'addition de carbonnate à 25 %. Par contre dans le tube des phosphatases alcalines, quelque minutes suffisent pour faire apparaître la coloration définitive. Les changements de l'intensité de la teinte sont très facilement observés à l'électrophotomètre.

Nous basant sur les expériences précédentes, nous avons cherché à accélérer la vitesse de formation de la coloration. Pour celà, nous nous sommes servis d'une solution de carbonate de sodium à 45 %, donc presque à saturation. Nous avons contrôlé les résultats vis-à-vis de dosages pratiqués à 25 % :

a) Les résultats, chiffrant les taux de phosphatases, ont été identiques que ce soit avec une solution de carbonate à 25 ou à 45 %.

b) La vitesse de formation de la coloration s'en est trouvée accélérée de la manière suivante :

— étalon,
de vingt-cinq minutes (carbonate à 25 %) ;
à dix minutes (carbonate à 45 %) ;
— phosphate acide,
de quarante-cinq minutes (carbonate à 25 %);
à huit minutes (carbonate à 45 %);
— phosphatase alcaline,
de quelques minutes (carbonate à 25 %);
à immédiatement (carbonate à 45 %).

Nous nous proposons donc d'ajouter, au dernier stade du dosage, 1 cc. de solution de carbonate de sodium à 45 % (soit 160 gr. de $CO_3 Na_2$ anhydre pour 200 gr. d'eau distillée).

4° Il nous paraît intéressant de signaler que, après l'adjonction du réactif de Follin et Ciocalteau, il y a intérêt à mélanger et agiter vivement les solutions avant de les centrifuger. Si le mélange n'a pas été fait d'une manière homogène, il peut persister dans le liquide surnageant, après centrifugation, un léger louche. Pour éliminer ce dernier, il convient de réagiter les tubes une minute à 1.000 tours-minute seulement. Ce procédé nous a réussi chaque fois.

CHAPITRE IV

DOSAGE DE PHOSPHATASE TISSULAIRE

Il nous a paru important d'avoir à notre portée une source de phosphatase acide qui nous permette le contrôle des étalons et, partant, du dosage.

Pour cela nous sommes partis de tissus prostatiques prélevés par prostatectomie pour adénome. En aucun cas, on ne se servira de prostate cancéreuse.

Technique.

On fait un broyat de prostate (11). L'opération doit se faire en milieu strictement stérile. Prélevés aseptiquement au moment de la prostatectomie, des morceaux de prostate sont pesés (on en prend 25 ou 50 gr.).

Dans un mortier stérilisé, on broye ces morceaux de prostate avec du sable stérilisé, après les avoir pulpés avec des ciseaux stérilisés.

Au bout d'un certain temps, on obtient une masse pâteuse saumonnée. On ajoute alors une quantité connue (1.000 cc.) de sérum physiologique à 9 ‰ stérilisé. On continue à broyer pendant une dizaine de minutes.

On filtre le jus ainsi obtenu dans un entonnoir et un papier-filtre stérilisé. On recueille le filtrat dans des tubes

à centrifuger coniques, eux aussi stérilisés. On centrifuge, on décante.

On fait une dilution connue, dans de l'eau distillée (par exemple au 100e). C'est sur cette dilution que va porter le dosage.

Le reste est mis en tubes à hémolyse stérilisés et bouchés au coton flambé. Ces tubes sont conservés par congélation dans la glace même du frigidaire. Les phosphatases vont ainsi se conserver plusieurs mois.

Pour le dosage on utilise la méthode de King intégrale portant sur 0,2 cc. de jus dilué.

Résultats.

Le 2 juin 1948, du jus ainsi préparé nous avait donné 231 unités King de phosphatase acide, ce qui correspond à plus de 100.000 unités par 100 cc. de jus.

Le 10 août 1948, ce même jus conservé par congélation nous donna 228 unités King.

Le 1er octobre 1948, ce même jus nous donna 230 unités King.

La teneur en phosphatase acide du jus de prostate ainsi conservé n'a donc pas varié dans le courant de quatre mois.

Nous avons pu, par conséquent, faire appel à lui chaque fois qu'il s'est agit de faire un contrôle sur un point quelconque du dosage.

CHAPITRE V

INACTIVATION PAR L'ALCOOL OU LE FORMOL

A côté de l'inactivation par la chaleur dont nous avons déjà parlé (page 18), King d'abord (24), puis Miss Herbert (11), se basant sur les idées de Lundsteen et Vermehren (28 et 29), ont mis au point une méthode d'inactivation spécifique de la phosphatase prostatique. Cette méthode consiste à laisser le sérum à doser en présence d'alcool ou de formol, un temps déterminé, à température ordinaire.

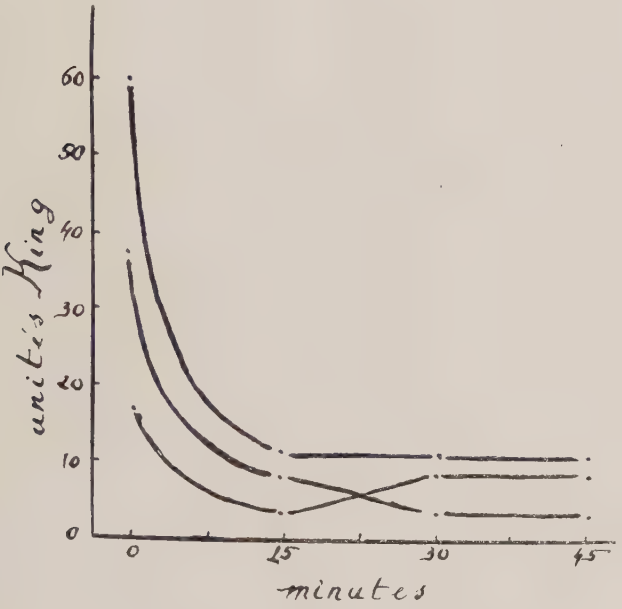
Technique.

D'après Miss Herbert (11), il convient d'ajouter à 1 cc. de sérum, 0,4 cc. d'alcool éthylique à 90°. On laisse les substances en présence demi-heure à la température de la pièce. Après quoi, on pratique le dosage de la phosphatase acide suivant la technique habituelle (méthode de King) en partant de 0,3 cc. du mélange sérum-alcool.

King préfère employer le même procédé avec du formol à la place de l'alcool (13-36).

Les résultats d'inactivation obtenus sont excellents et toutes les phosphatases acides d'origine prostatique sont détruites de cette manière alors que les phosphatases acides d'autre origine restent intactes.

Ainsi, pour citer un exemple, dans un cas de cancer de la prostate, nous avons trouvé 15 unités King de phosphatase acide. Un nouveau dosage pratiqué après l'action du formol sur le même sérum, nous a donné 3 unités King. Le formol avait donc inactivé 12 unités King. On pouvait donc conclure que l'hyperphosphatasémie acide chez ce malade était d'origine prostatique. C'est ce qu'a confirmé la clinique et la thérapeutique.



(Fig. 3).

Courbe d'inactivation en fonction du temps de la phosphatase acide par l'alcool pur à 90°.

Il semble donc que l'on se trouve ici en présence d'un test précieux nous permettant le diagnostic de l'origine d'une phosphatasémie acide.

Pour notre part, nous avons pu ainsi, dans chaque cas

de cancer de la prostate qu'il nous a été donné d'observer, inactiver la phosphatase acide.

Ce test est particulièrement utile dans le cas où deux phosphatases acides coexistent dans le sérum, pour faire le départ entre ce qui revient à la prostate et ce qui est d'une autre origine.

CHAPITRE VI

ACTIVATION PAR L'ION Zn^{++}

Comme nous l'avons déjà signalé en tête de notre étude (page 15), la question des effecteurs métalliques des enzymes est à l'ordre du jour et tend à sortir du domaine de la théorie pour apporter pratiquement une aide utile au clinicien.

C'est ainsi que, dans un article récent, Roche et Cornil (2), ont cru pouvoir livrer une méthode générale de diagnostic du cancer en se basant sur l'activation ou l'inhibition de la phosphatase alcaline par l'ion Zn^{++}.

Ces auteurs, après avoir mis en présence le sérum à doser avec des solutions de sulfate de zinc à des taux variant entre M/10.000 et M/500, ont conclu que « l'ion Zn^{++} active la phosphomono-estérase alcaline du sérum chez l'homme normal ou atteint d'affections non néoplasiques, alors que la présence d'une tumeur maligne va en général de pair avec une inhibition du même enzyme par cet ion ».

Discussion.

Les résultats donnés par ces auteurs nous permettent de conclure que :

1° La moyenne des erreurs est du taux de 25 %.

2° La moyenne de l'activation et de l'inhibition est du taux de ± 9,7 %. Or on admet, en général, que l'appréciation colorimétrique (') donne un taux d'erreur relative de ± 10 %.

Si bien que, à notre avis, cette méthode semble grevée d'abord d'un taux considérable d'erreurs (25 %) et ensuite ses résultats chiffrés ne dépassent pas le taux d'erreur relative imputable à la technique colorimètrique.

Au surplus, nous avons pratiqué cette technique sur six sérums d'hommes non cancéreux et voici nos résultats :

TABLEAU 3

N° DU SÉRUM	PHOSPHATASE ALCALINE	PHOS. AL. APRÈS ACTION DE Zn
1	2 unités Bodansky	— 0,5 unité Bodansky
2	4 » »	1 » »
3	1,5 » »	2 » »
4	2 » »	0 » »
5	3 » »	2 » »
6	2 » »	3,5 » »

Devant l'extrême diversité de ces résultats et devant les faits exposés ci-desus, nous pensons qu'une telle méthode ne peut pas s'appliquer à un diagnostic sérologique sérieux du cancer.

(') Les dosages sont faits suivant la méthode de Bodansky.

Conclusion.

Voici, pour conclure ce trop long exposé technique, un tableau comparatif des méthodes de Bodansky et de King, au sujet de la phosphatase alcaline :

TABLEAU 4

N° DES SÉRUMS	MÉTHODE DE KING EN UNITÉS KING	MÉTHODE DE BODANSKY EN UNITÉS BODANSKY	RAPPORT
1	14,2	4,2	3,4
2	43	14	3
3	3	1	3
4	6	2,6	2,8
5	33	10	3,3
6	72	20	3,5
7	11,6	3	3,8
8	7,2	2	3,6
9	10	2,8	3,5
10	92	25,7	3,5
11	10,5	3	3,5
12	10	3,2	3,5
13	15	5	3
Rapport général des unités King aux Bodansky.			3,3

Pour le calcul du taux des erreurs, il faudrait d'abord admettre que, dans tout sérum de sujet normal, on trouve toujours le même taux de phosphatase. Ce qui est loin d'être démontré. On a même vu que le taux pour la phosphatase alcaline peut varier entre 7 et 10 unités King, et pour la phosphatase acide entre 1 et 3 unités King.

Si l'on admet donc des taux moyens respectifs de 8,5 unités King et de 2 unités King, on peut alors se servir de la formule suivante :

$$e = \sqrt{\frac{\Sigma \triangle^2}{N\,(N-1)}}$$

où e = écart en valeur absolue;

$\triangle$ = écart de chaque mesure à la moyenne en valeur absolue;

N = nombre des mesures.

Dans ces conditions et avec cette formule, sur un lot de dix mesures effectuées sur un même sérum, nous avons trouvé une erreur absolue de 4 % pour la phosphatase alcaline et de 2 % pour la phosphatase acide.

*
* *

Ainsi nous espérons avoir montré que nous nous trouvons, devant la méthode King, en présence d'une technique de dosage éprouvée, sûre et fidèle, qui ne manquera point d'apporter, par ses dosages couplés et sa réaction spécifique, une aide efficace et utile à la clinique.

SECONDE PARTIE

LES PHOSPHATASES ET LES ICTERES

Avant de nous livrer au dosage de la phosphatasémie dans les cas de cancer de la prostate, il était important de savoir si d'autres affections cancéreuses ou non pouvaient provoquer une hyperphosphatasémie acide. L'existence de tels faits pouvait être à la source de graves erreurs de diagnostic. L'étude si complète de Miss Herbert (11) signalait, en effet, une telle hyperphosphatasémie dans certains cas d'hépatite, sans précision.

Nous avons donc étudié les phosphatases sériques dans le plus grand nombre possible d'affections hépathique.

En résumé, nous avons pu observer : trois ictères par rétention; six cirrhoses ou précirrhoses; deux ictères catarrhaux, dont un prolongé; un ictère toxique; une spirochétose ictérohémorragique; un diabète bronzé; une histioréticulocytose maligne; une amylose hépatique; une maladie de Westphall-Strümpell ou dégénérescence hépatostriée.

Le temps nous a malheureusement manqué pour réunir

davantage de cas de chaque affection. Les dernières étant d'ailleurs des raretés.

Fidèle à notre technique, nous avons profité de cette étude pour faire systématiquement un dosage couplé phosphatase acide-phosphatase alcaline, dans chaque cas, en concomitance avec un dosage de la prothrombinémie et un thymol-test comme type d'épreuves fonctionnelles hépatiques.

On sait, par ailleurs, que, d'une manière générale, une hyperphosphatasémie alcaline se manifeste lors des ictères par rétention à leur début, puis retombe assez rapidement lorsque la cholostase persistante finit par troubler le fonctionnement du parenchyme hépatique (10-39-40-41-42-43).

Il est d'autre part certain que cette hyperphosphatasémie alcaline se manifeste aussi dans quelques cas d'hépatite. La cellule hépatique se trouve alors en hyperfonctionnement et déverse dans le sang le surplus de sa production, tant exocrine qu'endocrine.

Or, il est admis d'une manière générale que c'est au parenchyme hépatique qu'est dévolue la production de la phosphatase alcaline (1-4-5-36). Il est donc logique de trouver une hyperphosphatasémie alcaline dans les hépatites.

Ce qui s'explique moins, dans ces affections, c'est l'augmentation du taux de la phosphatase acide. Car on admet que cette dernière est émise par la glande prostatique qui en contient des quantités considérables (page 33). Il faudrait donc supposer l'existence d'une autre phosphatase acide dosable par la même technique que la précédente et qui serait d'origine hépatique. Ce qui est certain, c'est que le formol inhibe d'une manière spécifique la phosphatase acide d'origine prostatique et pas l'autre (11-36). Les deux phosphatases seraient donc nettement différenciées.

CHAPITRE PREMIER

ICTERES PAR RETENTION

Observation I.

Sau... Albert, 68 ans. Ictère franc jaune, tournant à l'olivâtre, depuis trois semaines. Matières décolorées, urines bière brune. Foie normal. Très grosse vésicule peu douloureuse. Bon état général. Pas de température. Le tubage ne donne rien.

Le 1er octobre 1948 :

Phosphatase alcaline	42 unités King.
Phosphatase acide	4 unités King.
Tymol-test	+ 23.

Observation II.

Hos... Jean, 22 ans. Entre à l'hôpital le 23 mars 1948 avec un syndrome dysentériforme auquel se surajoute un syndrome d'hépatomégalie avec accès douloureux paroxystiques, subictère, avec un foie dur, très hypertrophié, douloureux à la palpation en un point électif. Température à grandes oscillations. Amaigrissement considérable.

T. R. : tumeur rectale végétante, dure, saignotante. Diagnostic : cancer du rectum (biopsie positive). Métastase secondaire hépatique. Les épreuves fonctionnelles hépatiques sont bonnes.

Le 25 août 1948 :

Phosphatase alcaline	25 unités King.
Phosphatase acide	4 unités King.
Prothrombine	100 %.
Thymol-test	+ 15.

Observation III.

Dan... Jean-Jacques, 59 ans. Ictère du type par compression. Fonce de plus en plus, urines bière brune et mousseuse, selles mastic. Pas de température. Antécédents gastriques remontant à quelques mois, radiographie gastrique montrant une lésion de l'antre étiquetée vieil ulcus ou néoplasme. Diagnostic : cancer du carrefour (?) par propagation.

19 août 1948 : atteinte marquée du parenchyme hépatique :

Phosphatase alcaline	15 unités King.
Phosphatase acide	8 unités King.
Prothrombine	50 %.
Thymol-test	+ 67.
Urée sanguine	0,20-0,25 gr. ‰.

On voit ici l'augmentation, dans les deux premiers cas, de la phosphatasémie alcaline. On observe, dans le troisième cas, deux faits particuliers :

1° Une phosphatasémie alcaline normale ou presque. Mais on sait que dans les ictères par rétention, cette dernière, après avoir augmenté quelque fois dans de fortes proportions, baisse très rapidement dès que la cellule hépatique est fonctionnellement atteinte. Ce qui est le cas ici.

2° Une légère hyperphosphatasémie acide. Nous avons pensé qu'il existait sous roche un cancer de la prostate primitif ou secondaire, qui n'avait pas encore fait parler de lui. La clinique a été impuissante à confirmer cette hypothèse. Il n'a pas été fait de biopsie.

CHAPITRE II

CIRRHOSES

Observation IV.

Dup... Henriette, 41 ans. Présente une cirrhose avec subictère, ascite, œdèmes des membres inférieurs, hypertrophie du foie. Ethylisme avéré avec cauchemars, tremblements, confusion mentale. Troubles fonctionnels digestifs.

4 août 1948 :

Phosphatase alcaline	7 unités King.
Phosphatase acide	3 unités King.
Prothrombine	20 %.
Thymol-test	+ 35.

Observation V.

Dub... Marcel, 53 ans. Cirrhose avec subictère et ascite.

5 août 1948 :

Phosphatase alcaline	13 unités King.
Phosphatase acide	3 unités King.
Prothrombine	60 %.
Thymol-test	+ 25.

Observation VI.

Dup... Elie, 42 ans. Entre d'urgence à l'hôpital en pleine crise de delirium tremens. Antécédents avérés d'éthylisme. Congestion pulmonaire du lobe inférieur droit avec sclérose rétractile accentuée nécessitant le séjour prolongé du malade à l'hôpital.

Au cours de l'examen, on découvre une légère hépatomégalie. Vu l'éthylisme du malade, on pense à une précirrhose. Pas d'ictère. Epreuves fonctionnelles hépatiques bonnes. Pas d'ascite ni d'œdème.

24 avril 1948 :

Phosphatase alcaline	4 unités King.
Phosphatase acide	1 unité King.
Prothrombine	100 %.
Thymol-test	+ 25.

Observation VII.

Arn... Jean, 51 ans. Cirrhose atrophique de Laennec dont le tout premier signe a été l'ascite sans aucun autre symptôme de la lignée éthylique. Plus tard, anorexie, pituite, entérogastrite, cauchemars, zoopsie. Pas d'ictère. Epreuves fonctionnelles pas très bonnes.

28 août 1948 :

Phosphatase acide	8 unités King.
Phosphatase alcaline	2 unités King.
Prothrombine	80 %.
Thymol-test	+ 30.

Observation VIII.

Min... Justin, 67 ans. Cirrhose hypertrophique typique avec début de polynévrite. Ascite sans ictère ni œdème.

18 août 1948 :

Phosphatase alcaline	4 unités King.
Phosphatase acide	3 unités King.
Prothrombine	80 %.
Thymol-test	+ 27.

Observation IX.

Lat... Jeanne, 63 ans. Cirrhose hypertrophique avec ascite, œdème et ictère prononcé. Epreuves hépatiques mauvaises.

25 août 1948.

Phosphatase alcaline	10 unités King.
Phosphatase acide	1 unité King.
Prothrombine	60 %.
Thymol-test	+ 35.
Urée sanguine	0,20 gr. ‰.

Donc, dans aucun cas de cirrhose, on observe une augmentation de la phosphatasémie, tant acide qu'alcaline.

CHAPITRE III

ICTERES CATARRHAUX

Observation X.

Gri... Antoine, 37 ans. Ictère catarrhal simple, bénin. Epreuves hépatiques excellentes.

7 août 1948 :

Phosphatase alcaline	10 unités King.
Phosphatase acide	4 unités King.
Prothrombine	100 %.
Thymol-test	+ 15.

Observation XI.

Mel... Berthe, 40 ans. Ictère catarrhal prolongé (un mois et demi). Epreuves hépatiques très bonnes.

7 août 1948 :

Phosphatase alcaline	12 unités King.
Phosphatase acide	2 unités King.
Thymol-test	+ 17.
Benzoate	Très bon.

Par conséquent, phosphatasémies acide et alcaline normales.

CHAPITRE IV

ICTERE TOXIQUE

Observation XII.

Meb... Lucien, 31 ans. Ce malade rentre d'urgence à l'hôpital pour intoxication aigüe. L'interrogatoire de l'entourage précise qu'il s'agit d'une absorption massive mais courte d'hydrogène arsénié par rupture de récipient. Céphalée intense, respiration dyspnéique, nombreux râles, sueurs froides, pouls petit à 140, hypothermie et hypotension. Ictère peu foncé. Hémoglobinurie massive puis anurie. Légère hépatomégalie et splénomégalie.

20 août 1948 :

Phosphatase alcaline	5 unités King.
Phosphatase acide	1 unité King.
Thymol-test	+ 38.

Cet ictère toxique essentiellement du type hémolytique a dû cependant s'accompagner d'une atteinte de la cellule hépatique (thymol-test + 38). Baisse de la phosphatasémie alcaline. Phosphatase acide normale.

CHAPITRE V

SPIROCHETOSE ICTEROHEMORRAGIQUE

Observation XIII.

Bou... René, 40 ans, releveur de compteur à gaz.

Malade atteint vers le 26 juillet 1948 d'une spirochétose ictérohémorragique, confirmée le 16 août 1948, par un sérodiagnostic positif de l'Institut Pasteur, malgré une leptospirurie négative, le 9 août 1948. Température à rechute. Teint grenade mûre. Hépatomégalie.

21 août 1948 :

Phosphatase alcaline	8 unités King.
Phosphatase acide	7 unités King.
Thymol-test	+ 70.
Urée sanguine	1,60 gr. ‰.

Voici le seul cas d'hépatite où nous ayons trouvé une légère augmentation de la phosphatasémie acide. Cette phosphatase acide n'a jamais pu être inactivée par le formol.

CHAPITRE VI

AUTRES AFFECTIONS HEPATIQUES

Observation XIV.

Tro... Camille, 54 ans. Malade ayant présenté une cirrhose hypertrophique avec mélanodermie sur laquelle s'est greffé un syndrome diabétique sans dénutrition.

Diagnostic : cirrhose pigmentaire (diabète bronzé).

24 août 1948 :

Phosphatase alcaline	35 unités King.
Phosphatase acide	3 unités King.
Thymol-test	+ 10.

Observation XV.

Fon... Jacques, 61 ans. Malade présentant une histioréticulocytose maligne caractérisée par des adénopathies petites, dures, élastiques, non douloureuses, mobiles, réparties dans les régions inguinales, axillaires, sous-maxillaires et, surtout, volumineuse masse médiastinale. Rate et foie normaux.

La biopsie ganglionnaire élimine la maladie d'Hodgkin et précise des monstruosités du S. R. E.

Sur cette réticulose, traitée favorablement par radiothérapie,

un ictère d'allure pseudo-catarrhale, urines acajou, selles mastic, prurit, bradycardie.

20 août 1948 :

Phosphatase alcaline	41 unités King.
Phosphatase acide	3 unités King.
Thymol-test	+ 41.

Observation XVI.

Jég... Marcel. 25 ans. Tremblements à grande amplitude, intentionnels, des mains et des doigts, sensations de décharge électrique dans les membres. Céphalées intermittentes. Baisse de l'acuité visuelle et brouillard. Anneau de Kayser-Fleister péricornéen (vert).

30 août 1948 :

Phosphatase alcaline	10 unités King.
Phosphatase acide	2 unités King.
Prothrombine	100 %.
Procaïnestérase	55 % en 30'.
Thymol-test	+ 18.
L. C. R.	Normal.
B. W.	Négatif.

Diagnostic : maladie de Westphall-Strümpell.

Observation XVII.

Bou... Abel, 29 ans. Tuberculose pulmonaire depuis 1944. Traité par extrapleural droit. Fistule. Depuis, faiblement évolutif. B. K. + +. Hépatomégalie progressive depuis fin 1945, entraînant des troubles dyspeptiques par compression. Mélanodermie. Ictère peu prononcé.

Biopsie hépatique : dégénérescence amyloïde du foie.

Diagnostic : amylose hépatique.

16 août 1948 :

Phosphatase alcaline	38 unités King.

Phosphatase acide . . . . . 2 unités King.
Prothrombine . . . . . 20 %.
Thymol-test . . . . . + 70.
Benzoate . . . . . Très mauvais.
Cholestérol . . . . . 0,85 gr. ‰.

On remarque dans ces quatre affections une hyperphosphatasémie alcaline moyenne en faveur d'un facteur rétentionnel. Pas d'augmentation de la phosphatase acide.

*
* *

Voici le tableau récapitulatif des résultats de nos dosages dans les dix-sept cas d'affections hépatiques diverses que nous avons étudiées :

TABLEAU 5

AFFECTIONS	PHOSPHATASE ALCALINE	PHOSPHATASE ACIDE	PROTHROMBINE	THYMOL
1. Ictère par rétention. . .	42 u.K.	4 u.K.	100 °/o	+ 23
2. Ictère par rétention. . .	25	4	50 °/o	+ 15
3. Ictère par rétention. . .	15	8	20 °/o	+ 67
4. Cirrhose Hypertrophique.	7	3	60 °/o	+ 35
5. Cirrhose Hypertrophique.	13	3	100 °/o	+ 25
6. Précirrhose.	4	1	80 °/o	+ 25
7. Cirrhose atrophique. . . .	8	2	80 °/o	+ 30
8. Cirrhose hypertrophique.	4	3	60 °/o	+ 27
9. Cirrhose hypertrophique.	10	1	100 °/o	+ 35
10. Ictère catarrhal bénin. .	10	4		+ 15
11. Ictère catarrhal prolongé.	12	2		+ 17
12. Ictère toxique (AsH2). .	5	1		+ 38
13. Spirochetose ict. hem. . .	8	7		+ 70
14. Diabète bronzé.	35	3		+ 10
15. Réticulocytose maligne. .	31	3		+ 41
16. M. de Westphall-Strümpell.	10	2	100 °/o	+ 18
17. Amylase hépatique.	38	2	20 °/o	+ 70

Comme nous venons de le voir, à part la spirochétose ictérohémorragique, il ne semble pas que l'existence d'une affection hépatique puisse provoquer la formation d'une phosphatasémie acide supérieure à la normale. Nos résultats sont, par conséquent, en accord avec ceux donnés par Miss Herbert, qui ne signalait une hyperphosphatasémie acide peu élevée que dans des cas peu nombreux d'hépatite.

TROISIEME PARTIE

LES PHOSPHATASES ET LES CANCERS DE LA PROSTATE

Nous allons maintenant nous livrer à l'étude physiopathologique de la phosphatasémie alcaline et acide dans les différents cas de cancers prostatiques qu'il nous a été donné d'observer.

En dehors du cas simple, où un malade de la soixantaine présente des troubles fonctionnels caractéristiques et pour lequel le toucher rectal, l'uréthroscopie et l'uréthrographie groupent un faisceau de données convergentes vers l'affirmation du cancer de la prostate et où le dosage des phosphatases ne fera que confirmer ce diagnostic, il existera d'autres cas où la diagnose se fera hésitante. C'est alors que le dosage des phosphatases sériques couplées apportera à la clinique une aide précieuse et utile.

S'agit-il de trancher entre adénome et cancer ? Dans un certain nombre de cas les phosphatases pourront donner une indication.

S'agit-il de connaître une métastase osseuse ? La radiographie montrera des lésions que les phosphatases pourront étiqueter.

S'agit-il d'un malade qui se présente comme un arthritique ou un osseux avec troubles de la marche et douleurs ? Les phosphatases appuyant la radiographie, indi-

queront l'origine prostatique ou non prostatique des lésions.

Souvent, à la suite d'un examen radiographique fortuit décelant une lésion osseuse méconnue, les phosphatases montreront l'existence d'un cancer de la prostate, ignoré ou récidivant après une prostatectomie antérieure de quelques mois ou de quelques années.

Il n'est pas jusque dans la conduite judicieuse du traitement aux œstrogènes ou par orchidectomie, que les phosphatases n'apporteront d'intéressants renseignements au thérapeute.

17 observations de cancers prostatiques vont nous aider à mettre en lumière ces différents cas.

CHAPITRE PREMIER

CANCERS DE LA PROSTATE DIAGNOSTIQUES CLINIQUEMENT. CONFIRMATION DU DIAGNOSTIC PAR LE DOSAGE DES PHOSPHATASES.

Voici trois cas de cancers prostatiques où le dosage des phosphatases n'a fait qu'apporter sa pierre à l'édification d'un diagnostic facile.

Observation XVIII.

Abbé Fer..., 82 ans. Opéré trois ans auparavant par prostatectomie pour adénome simple de la prostate (contrôle histologique = adénome).

Revient à l'hôpital (service du Docteur Blanchot), en janvier 1948, avec une sonde à demeure qui a dû être remise parce que le malade ne pouvait plus uriner.

Au T. R. : grosse prostate dure, bosselée, donnant tous les signes de néoplasme en évolution. Etat général mauvais. Mis immédiatement sous distilbène (30 mmgrs par jour).

26 mai 1948 :

Phosphatase alcaline	26 unités King.
Phosphatase acide	31 unités King.

Ce malade a, d'ailleurs, favorablement réagi au traitement puisque le 26 juin 1948 :

Phosphatase alcaline . . . . . 14 unités King.
Phosphatase acide . . . . . 11 unités King.

Le 1er septembre 1948, l'état du malade déclinant ne permet pas un autre dosage.

Observation XIX.

Jou... Antoine, 57 ans. Entre, au début de juin 1948, à l'hôpital (service du Professeur Darget), pour cancer prostatique au début. En rétention complète. Sonde à demeure.

Mis sous distilbène (2 mmgrs par jour) à partir du 3 août 1948.

10 août 1948 :

Phosphatase alcaline . . . . . 10 unités King.
Phosphatase acide . . . . . 20 unités King.

Le 11 août 1948 une résection endoscopique permet une biopsie (contrôle anatomopathologique = cancer de la prostate).

Ce malade a bien réagi, lui aussi, au traitement puisque le 1er septembre 1948 :

Phosphatase alcaline . . . . . 10 unités King.
Phosphatase acide . . . . . 4 unités King.

Observation XX.

Tar... Jean-Pierre, 82 ans. Entre en rétention (service du Professeur Darget). Le toucher rectal et l'uréthrographie imposent le diagnostic de cancer de la prostate.

29 septembre 1948 :

Phosphatase alcaline . . . . . 13 unités King.
Phosphatase acide . . . . . 10 unités King.

1er octobre 1948 : mis sous distilbène.

L'augmentation de la phosphatase acide plus ou moins élevée suivant chacun de ces trois malades corroborait les données cliniques.

Par contre, dans les trois cas suivants d'adénome simple de la prostate, le taux de la phosphatase acide se maintenait aux environs de la moyenne.

Observation XXI.

Ben... Léonce-Jean, 57 ans (service du Professeur Darget). Adénome simple de la prostate confirmé cliniquement, radiologiquement, uréthroscopiquement. Opéré par résection endoscopique, huit jours avant le dosage.

25 mai 1948 :

Phosphatase alcaline	11 unités King.
Phosphatase acide	1 unité King.

Observation XXII.

Gou... André, 58 ans. Entre à l'hôpital (service du Professeur Darget) pour phénomènes de cystite accompagnant un syndrome prostatique. T. R. : glande prostatique hypertrophiée suspecte avec un noyau très dur siègeant sur le lobe médiant, du volume d'une noix.

On pense à un cancer.

1er septembre 1948 :

Phosphatase alcaline	10 unités King.
Phosphatase acide	1 unité King.

Le résultat de ce dosage n'est pas en faveur d'un néoplasme.

On décide d'opérer le malade par prostatectomie, le 30 septembre 1948. La veille un nouveau dosage donne :

Phosphatase alcaline	10 unités King.
Phosphatase acide	2 unités King.

L'examen anatomopathologique pratiqué sur la pièce opératoire, donne : « adénofibromyomatose ».

Observation XXIII.

For... Jules, 83 ans. (D'après le Docteur Blanchot). Malade opéré en deux temps, il y a cinq ou six ans, pour hypertro-

phie prostatique infectée. Prostatectomie. Bon état général jusqu'en mai 1948.

A ce moment, rétention après prodromes habituels. Hématurie importante avec caillots. Impossibilité de sonder.

T. R. : placard irrégulier, volumineux, très douloureux.

Le diagnostic hésite entre prostatite et néoplasme.

27 septembre 1948 :

Phosphatase alcaline	8 unités King.
Phosphatase acide	2,5 unités King.

Ce dosage n'étant pas en faveur d'un néoplasme, une thérapeutique à base de bains de siège et de pénicilline est instituée. Les symptômes s'amendent rapidement mais il aurait persisté une dysurie.

Dans cette observation nous avons même pu faire le départ entre l'origine néoplasique ou inflammatoire d'un placard prostatique pour lequel la clinique se montrait hésitante.

Nous avons eu l'occasion d'observer un jeune garçon atteint d'un sarcome de la prostate.

Observation XXIV.

Mas... Henri, 6 ans. Entre à l'hôpital (service du Professeur Darget) pour rétention. T. R. : grosse prostate volumineuse dans sa totalité, très dure, bosselée, irrégulière, non douloureuse.

On pense à un cancer de la prostate. L'uréthrographie confirme cette hypothèse.

Au cours d'une cystostomie, on prélève des fragments de la tumeur prostatique. La biopsie révèle : « sarcome de la prostate ».

29 septembre 1948 :

Phosphatase alcaline	13 unités King.
Phosphatase acide	3 unités King.

Ce résultat ne peut surprendre. Le tissu néoplasique

dans le sarcome se développant aux dépens de la trame conjonctive, le tissu glandulaire ne se trouve pas, probablement, atteint, tout au moins au stade où se situe l'observation. La fonction sécrétoire de la phosphatase acide par la glande prostatique ne subit pas d'hyperfonctionnement. La phosphatasémie est normale.

CHAPITRE II

DIAGNOSTIC D'UNE METASTASE OSSEUSE

Observation XXV.

Cal... Frédéric, 64 ans. (D'après le Docteur Blanchot).

En mars 1948, envoyé dans le service du Professeur Delmas-Marsalet, pour paralysie des membres inférieurs. La radiographie montre alors une atteinte des troisième, quatrième, cinquième vertèbres dorsales.

T. R. : gros noyau prostatique, irrégulier, dur. Mis immédiatement sous distilbène à fortes doses (40 mmgrs par jour). Grosse amélioration des troubles douloureux et paralytiques.

Castration fin mai 1948.

25 mai 1948 (veille de l'opération) :

Phosphatase alcaline	92 unités King.
Phosphatase acide	31 unités King.

Ce résultat montre une forte augmentation de la phosphatasémie acide en rapport : 1° avec le néoplasme prostatique, 2° avec sa métastase vertébrale. L'atteinte osseuse est signée par la forte augmentation de la phosphatasémie alcaline.

Ce malade a réagi d'une manière remarquable au distilbène, puisque le 26 septembre 1948 :

Phosphatase alcaline	12 unités King.
Phosphatase acide	6 unités King.

Observation XXVI.

Lav... Camille, 70 ans. Entre à l'hôpital (service du Professeur Darget), en mai 1948 pour troubles dysuriques datant de trois mois.

T. R. : prostate augmentée de volume, lisse mais particulièrement dure. On ne peut faire le diagnostic clinique entre adénome ou néoplasme de la prostate.

15 mai 1948 : une résection-biopsie donne : « adénome ». Mais une image louche radiographique est repérée au niveau de l'aile iliaque droite. Sans traitement au jour du dosage.

21 mai 1948 :

Phosphatase alcaline	40,7 unités King.
Phosphatase acide	0,7 unités King.

Par conséquent, il ne s'agissait vraisemblablement pas d'une métastase osseuse d'un cancer de prostate. Par contre, on pouvait supposer une osteite pagetoïde de l'aile iliaque droite.

Le malade part du service en juin 1948, en parfait état. A sa sortie du service, on ne pense toujours pas à un cancer de la prostate. L'image de lésion osseuse n'est pas élucidée.

Nous venons ici d'avoir l'exemple de deux observations opposées pour lesquelles le laboratoire a pu communiquer des données intéressantes en concordance avec celles de la clinique et de la radiologie.

CHAPITRE III

DECOUVERTE D'UN NEOPLASME PROSTATIQUE METASTASANT CHEZ UN MALADE SE PRESENTANT COMME UN OSSEUX, UN ARTHRITIQUE OU COMME ATTEINT DE SCIATIQUE

Nous pensons, avec le Docteur Servantie, qu'il faut mettre l'accent sur l'importance considérable que présente un dosage des phosphatases chez tout vieillard se plaignant de douleurs vertébrales, osseuses ou sciatiques facilement étiquetées rhumatismales ou arthritiques. A leur origine on aura la surprise de déceler une métastase osseuse d'un cancer primitif de la prostate.

Un diagnostic redressé, des souffrances épargnées, une survie prolongée, voilà comment se manifesteront les utiles données apportées à la clinique par le dosage de la phosphatasémie.

Observation XXVII.

Laf... Victor, 73 ans. Malade, s'étant présenté, début septembre 1948, dans la service du Professeur Delmas-Marsalet, pour sciatique bilatérale. Le malade n'ayant révélé dans son interrogatoire, rien de spécial, le diagnostic étiologique de son affec-

tion reste en suspens jusqu'au 17 septembre 1948 où :

Phosphatase alcaline	55 unités King.
Phosphatase acide	17 unités King.

On pense immédiatement à un cancer de la prostate métastasant au niveau de L_1 L_2.

Ce diagnostic est, quelques jours plus tard, confirmé lorsque l'on apprend que le malade a été soigné, six mois plus tôt, à Toulouse, pour un néoplasme de la prostate ayant bien réagi au distilbène. Pas d'orchidectomie. Sans traitement depuis mars 1948.

Observation XXVIII.

Rob... Louis, 66 ans. Opéré par prostatectomie pour hypertrophie prostatique, en novembre 1946.

Deux mois plus tard, douleurs au poignet droit, épaule et jambe gauches, puis à la colonne lombaire, irradiant en ceinture.

Crises rétentionnelles intermittentes.

T. R. : masse prostatique formée de trois à quatre noyaux très durs.

Babinsky bilatéral.

Le malade est envoyé à l'hôpital pour maladie de Paget. Il ne raconte pas l'histoire de sa prostatectomie.

2 octobre 1948 :

Phosphatase alcaline	49 unités King.
Phosphatase acide	22 unités King.

Ce dosage révèle un cancer de la prostate avec métastase osseuse.

A des questions plus précises, le malade répond alors par l'histoire de son passé prostatique.

Dirigé sur un service d'urologie.

CHAPITRE IV

CONTROLE DE LA THERAPEUTIQUE

Voici quelques observations relatives à des malades atteints de cancer prostatique et traités soit par aiguillage, aux aiguilles de radium, soit par castration bilatérale et emploi des œstrogènes de synthèse.

Dans chacun de ces cas on peut suivre l'action thérapeutique par le dosage répété systématique des phosphatases sériques.

Aiguillage.

Observation XXIX.

Bil... Jean, 45 ans (service du Professeur Darget). Cancer confirmé de la prostate sans métastase appréciable cliniquement ou radiologiquement.

Aiguillé (cinq aiguilles de radium) deux jours avant le dosage.

Phosphatase alcaline	7,4 unités King.
Phosphatase acide	0,8 unités King.

Observation XXX.

Vig... Louis, 65 ans. Entre à l'hôpital (service du Professeur

Darget) au mois de juillet 1948 pour rétention aigüe. Sonde à demeure.

Résection-biopsie (21 juillet 1948) : « adéno-fibromyomatose de la prostate ».

Mais le toucher rectal, l'urétrographie et la radiographie de l'os iliaque gauche font penser à un cancer de la prostate avec métastase de l'os iliaque. Il n'a pas été fait, à ce moment-là, de dosage de phosphatases.

Le 29 juillet 1948, on implante dans la prostate cinq aiguilles de radium par périnéotomie au cours de laquelle on pratique une biopsie. L'examen anatomopathologique répond alors : « adénome en voie de régénérescence ».

10 septembre 1948 :

Phosphatase alcaline	19 unités King.
Phosphatase acide	0,9 unités King.

On continue la thérapeutique par du distilbène (25 mmgrs par jour).

12 septembre 1948 :

Phosphatase alcaline	11 unités King.
Phosphatase acide	3 unités King.

Dans ces deux cas on peut donc observer une chute rapide et brutale de la phosphatasémie acide en dessous nettement de la normale avec, peut-être, une tendance à remonter au taux moyen après un mois, et cela malgré l'emploi du distilbène (Obs. XXX).

Castration.

Il ne nous a été malheureusement possible d'observer qu'un seul cas de cancer prostatique où la thérapeutique ait été bornée à la seule castration.

Observation XXXI.

Cap... Paul, 78 ans. (D'après le Docteur Blanchot). Malade

se sondant depuis longtemps pour lequel le diagnostic était resté hésitant entre cancer et adénome.

Le 28 juillet 1948, rétention aigüe.

T. R. : grosse prostate dure, bosselée, non douloureuse.

Verge enflammée, œdémateuse, interdisant le port de la sonde à demeure.

Diagnostic : cancer prostatique probable. Cystostomie et castration, le 10 septembre 1948.

Une heure après l'opération :

Phosphatase alcaline	7 unités King.
Phosphatase acide	12 unités King.

Le 27 septembre 1948 :

Phosphatase alcaline	11 unités King.
Phosphatase acide	3 unités King.

Dans cette observation on assiste, en l'espace d'une quinzaine de jours à la suite d'une castration, à la chute appréciable de la phosphatasémie acide, qui retombe à la normale.

Œstrogène de synthèse.

Là aussi nous ne pouvons apporter qu'un seul cas de cancer prostatique où la thérapeutique se soit bornée au distilbène. Cette observation nous l'avons déjà citée pour illustrer un de nos chapitres précédents (Obs. XIX, p. 58).

Chez ce malade atteint de cancer de prostate pris au début, le distilbène donné à raison de 25 mmgrs par jour tous les jours a fait baisser, en vingt jours, la phosphatasémie acide de 20 à 4 unités King.

Castration et œstrogènes réunis.

Observation XXXII.

Fau... Armand, 83 ans. (D'après M. le Docteur Blanchot). Cancer de la prostate opéré, au début, par prostatectomie en

1 temps en octobre 1946 (contrôle anatomopathologique = cancer).

Mis sous distilbène 30-40 mmgrs par jour pendant vingt-vingt-cinq jours par mois (en réalité, n'a dû prendre que 3 à 4 mmgrs par jour).

Revu le 11 mai 1948 parce que a uriné du sang. Se lève deux fois dans une nuit de neuf heures. T. R. : à la place de la prostate, nodules durs, bosselés, plus larges que la surface de l'extrémité d'un doigt.

On a l'impression de récidive.

Castration le 15 mai 1948. Continuation de la thérapeutique aux œstrogènes.

26 mai 1948 :

Phosphatase alcaline	14,5 unités King.
Phosphatase acide	33 unités King.

27 septembre 1948 :

Phosphatase alcaline	7 unités King.
Phosphatase acide	2 unités King.

Observation XXXIII.

Tai... Jules, 88 ans. (D'après M. le Docteur Blanchot). Néoplasme de la prostate contrôlé histologiquement. Cystostomie en mai 1945. Castration six mois plus tard, en même temps que mise en œuvre d'une thérapeutique au distilbène (30-40 mmgr. par jour, vingt-vingt cinq jours par mois).

En mars 1947, la tumeur prostatique au T. R. a régressé d'au moins les trois-quarts. On tente alors d'enlever ce qui reste pour permettre au malade d'uriner seul. Ablation d'une masse formant relief dans la vessie (croupion de poulet), très dure (nouveau contrôle histologique = cancer). Cicatrisation en cinquante jours.

26 mai 1948 :

Phosphatase alcaline	7 unités King.
Phosphatase acide	34 unités King.

Donc forte augmentation de la phosphatasémie acide. Continuation du processus malin malgré les thérapeutiques employées.

Cependant le 3 septembre 1948 :

Phosphatase alcaline	7 unités King.
Phosphatase acide	8 unités King.

Le malade réagit donc lentement au distilbène. Nous avions, à cette époque, formé l'hypothèse qu'il existait chez ce malade un reliquat de cancer prostatique que n'aurait pas enlevé l'opération de mars 1947 et que le distilbène stériliserait peu à peu. Interrogé à ce sujet, le Docteur Blanchot confirma notre supposition.

Observation XXXIV.

Lam... Justin, 75 ans. (D'après le Docteur Blanchot). Opéré six ans auparavant, par cystostomie pour cancer de la prostate. Considéré comme réinopérable et laissé avec une cystostomie définitive. Septembre 1947 : souffre terriblement de la région vésicale. Remise en place de la sonde qui se trouvait dans la cavité prévésicale et castration bilatérale en novembre 1947. Suppression des douleurs et amélioration de l'état général. Distilbène (25 mmgrs par jour, vingt-cinq jours par mois).

20 avril 1948 :

Phosphatase alcaline	10 unités King.
Phosphatase acide	5 unités King.

25 avril 1948 :

T. R. : prostate très dure, rétractée, sans diffusion. Ablation de la prostate par la voie de Millin. Cicatrisation en quarante-cinq jours.

Mort, début août 1948, de congestion cérébrale, en quarante-huit heures.

Observation XXXV.

Mau... Albert, 66 ans. (D'après le Docteur Blanchot). En octobre 1945, rétention chronique d'urine. Très difficile à sonder.

T. R. : cancer de la prostate.

Cystostomie, distilbène. Mars 1946, la tumeur ayant considérablement diminué de volume, on décide son ablation. (Examen histologique = cancer de la prostate). Castration en septembre 1947. Distilbène 25 mmgr. par jour, vingt-cinq jours par mois.

27 septembre 1948 :

Phosphatase alcaline	10 unités King.
Phosphatase acide	3 unités King.

Par conséquent parallélisme entre la courbe de la phosphatasémie et celle de l'action des deux thérapeutiques, castration et œstrogène réunis.

Nos dosages sont en nombre insuffisants pour nous permettre de généraliser nos résultats et d'établir une théorie sur la rapidité de l'action de telle ou telle thérapeutique. Miss Herbert (11) a pu faire les remarques suivantes :

La castration bilatérale est suivie d'une chute prononcée et rapide de la phosphatasémie acide, qui tombe à des chiffres normaux de 3-4 u. K. en l'espace de quatre à cinq jours.

L'action du distilbène est beaucoup plus lente puisque la chute de la phosphatasémie acide à des taux normaux ne se fait qu'en une quinzaine de jours.

Nos résultats semblent corroborer ces faits.

L'auteur anglais n'a pas étudié l'action de l'aiguillage. Ce dernier, d'après nos deux observations, provoquerait une chute très rapide jusqu'à des taux en dessous de l'unité. Pour se faire une idée juste de la question, il faudrait étudier beaucoup plus de cas.

CHAPITRE V

ECHECS

Comme tout dosage biologique, le dosage des phosphatases sériques connaît ses échecs.

Sur 16 cas de cancer de prostate qu'il nous a été donné d'observer, nous n'avons enregistré que deux observations pour lesquelles le dosage ait été défaillant. Encore que dans la première on n'ait pas pu établir d'une façon absolument certaine le diagnostic de cancer.

Observation XXXVI.

Den... Jean, 86 ans. Entre en rétention dans le service du Professeur Darget, début septembre 1948. Le toucher rectal fait penser à un adénome. Mais l'âge du malade, son état général déficient et l'uréthrographie signent plutôt un cancer.

10 août 1948 :

Phosphatase alcaline	9 unités King.
Phosphatase acide	3 unités King.

Malgré ce dosage, le diagnostic de cancer l'emporte et un aiguillage est pratiqué le 19 août 1948.

Une résection biopsie du 3 septembre 1948 ne peut pas affirmer le cancer.

29 septembre 1948 :

Phosphatase alcaline	9 unités King.
Phosphatase acide	3 unités King.

Observation XXXVII

Aud... Emile, 67 ans. Entre en rétention dans le service du Professeur Darget début septembre 1948.

T. R. : grosse prostate hypertrophiée dans son ensemble, paraissant néoplasique.

L'uréthrographie confirme ce diagnostic.

1er septembre 1948 :

Phosphatase alcaline	7 unités King.
Phosphatase acide	1 unité King.

4 septembre 1948 : Début du traitement au distilbène 20 mmgrs par jour).

2- septembre 1948 : Résection biopsie donne « adénome en voie de dégénérescence ».

29 septembre 1948 :

Phosphatase alcaline	11 unités King.
Phosphatase acide	5 unités King.

Ce deuxième dosage montre une petite augmentation de la phosphatasémie acide. Il semblerait donc que le démarrage de celle-ci soit légèrement en retard sur le début anatomopathologique de l'affection.

Il est certain, d'autre part, que le malade a pris du distilbène. Ce dernier n'agirait-il pas sur le néoplasme tout à son début ?

CHAPITRE VI

CANCER DE VESSIE

Des articles récents, parmi lesquels il faut citer celui de Wolfromm et Loiseleur (37), font mention d'un légère hyperphosphatasémie acide dans des cas de néoplasme de la vessie. D'après ces auteurs, dans le cancer de la vessie, le taux de phosphatase acide varierait entre 6 et 12 unités King.

Nos dosages ne nous permettent pas de suivre ces auteurs dans leur conclusion.

Voici trois cas de cancer de la vessie où la phosphatasémie, tant acide qu'alcaline, est absolument normale.

Observation XXXVIII

Gar... Louis, 72 ans. (Service du Professeur Darget). Hématuries du type vésical. La cystoscopie et la cystographie orientent le diagnostic vers le cancer vésical. Extension possible au rectum.

19 août 1948 : Dérivation des uretères dans l'intestin. Second temps, cystectomie probable.

29 septembre 1948 :

Phosphatase alcaline	10 unités King.
Phosphatase acide	2 unités King.

Observation XXXIX

Bou... Robert, 63 ans. Entre dans le service du Professeur Darget pour hématuries importantes, mi-septembre 1948. Rétention. Sonde à demeure. La cystoscopie et la cystographie posent le diagnostic de tumeur de la vessie haut située et postérieure. Le toucher rectal permet de sentir la tumeur.

Phosphatase acide	9 unités King.
Phosphatase alcaline	3 unités King.

Observation XL

Nav... Henri, 69 ans. Entre dans le service du Professeur Darget à la mi-septembre 1948 pour des hématuries importantes, du type vésical. La cystoscopie et la cystographie posent le diagnostic de cancer de la vessie.

29 septembre 1948 :

Phosphatase alcaline	10 unités King.
Phosphatase acide	2 unités King.

Radiothérapie de contact (Institut Bergonié), le 10 octobre 1948.

Nous sommes par conséquent, sur ce point, en parfait accord avec les auteurs américains, qui se sont d'ailleurs livrés à des études portant sur un beaucoup plus grand nombre de cas, que nous ne pouvions le faire dans ce modeste ouvrage.

DISCUSSION

Pour terminer, il semble que nous ne puissions mieux faire que de comparer nos résultats avec ceux déjà obtenus par d'autres auteurs, et en particulier par Miss Herbert.

TABLEAU 6

AFFECTION	RÉSULTATS DE HERBERT					NOS PROPRES RÉSULTATS				
	Nombre total	+ de 30 u.	de 10 à 30 u.	de 5 à 10 u.	Taux normal	Nombre total	+ de 30 u.	de 10 à 30 u.	de 5 à 10 u.	Taux normal
Affections hépatiques.	19	0	0	3	16	17	0	0	1	16
Hépatites ppt dites..	14	0	0	3	11	14	0	0	1	13
Néo. prostate sans métastase	47	0	4	28	15	13	0	2	9	2
Néo. prostate avec métastase	35	6	18	8	4	3	0	3	0	0
Adénomes.....	95	0	0	9	86	3	0	0	0	3

Tableau récapitulatif et comparatif des résultats de dosage de *phosphatasémie acide*, obtenus par Miss Herbert et par nous-même.

En somme, les résultats de Miss Herbert et les nôtres sont superposables. Ils sont aussi en accord avec ceux de nombreux autres auteurs (46, 47, 48, 49, 50). Parmi eux, citons Sullivan, Gutman et Gutman (44) avec, sur 100 cas de cancers prostatiques, 126 taux élevés, dont 115 avec métastases et Huggins et Hodges (45), avec, sur 47 cas, 21 taux élevés dont 19 avec métastases.

Cependant, en France, Sibert (51) a, tout dernièrement, publié un article selon lequel les cas de phosphatasémie moyenne n'existent pas. Cet auteur classe les cancers de prostate en deux catégories. Les cancers simples avec des taux normaux (3-4 unités), et les cancers avec métastase osseuse, avec des taux élevés (20 unités et plus).

Nos résultats nous empêchent de suivre cet auteur dans sa classification aussi catégorique.

CONCLUSION

Nous voici au stade terminal de notre étude que nous n'avons que très imparfaitement ébauchée.

Nous allons pouvoir, au sujet de cette immense question que représente le dosage des phosphatases, indiquer les quelques grandes lignes générales suivantes. Nous restons persuadés qu'elles seront remises en question non peut-être dans le fond qui semble acquit mais dans grand nombre de détails qui restent à préciser.

I. - La méthode de King permet un dosage sûr des deux phosphatases. On peut inhiber d'une manière spécifique, par le formol, la phosphatase acide d'origine prostatique. La phosphatasémie acide dans les affections hépatiques ne semble pas très répandue. Le taux normal de phosphatasémie acide est de 3-4 unités King; alcaline 5-10 u. K.

II. - La majorité des cas de cancers prostatiques avec métastase osseuse donne un taux élevé de phosphatases, acide et alcaline (40 u. K. et plus). Un petit nombre de cas toutefois ne dépasse pas le taux normal (3-4 u. K.).

III. - La grosse majorité des cas de cancers prostatiques sans métastase osseuse donne des taux moyens de phosphatase acide compris entre 5 et 10 unités King. Quelques cas ont des taux normaux.

IV. - La simple hypertrophie prostatique ne provoque jamais d'hyperphosphatasémie acide, encore moins alcaline.

V. - La courbe de la phosphatasémie acide d'un cancéreux prostatique suit d'une manière remarquable l'efficacité de la thérapeutique à laquelle il est soumis :

— Chûte prononcée et rapide (4-5 jours) après aiguillage et castration.

— Chûte prononcée, mais moins rapide (15 jours), par thérapeutique aux œstrogènes.

— Augmentation si traitement insuffisant ou inefficace.

VI. - Il faut chez tout vieillard rhumatisant ou osseux faire un dosage des phosphatases sériques. On aura ainsi l'occasion, en décelant un cancer prostatique sousjacent, sinon de guérir, du moins d'épargner des souffrances.

*
* *

Nous espérons avoir montré, dans ce modeste ouvrage, l'importance et l'intérêt d'un dosage biologique que nous voudrions voir entrer dans la pratique courante pour aider à secourir les malades. Car, c'est en fin de compte à eux que doit aller toute notre attention et tous nos soins.

SERMENT D'HIPPOCRATE

En présence des Maîtres de cette Ecole et de mes condisciples, je promet et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité, dans l'exercice de la Médecine.

Je donnerai mes soins à l'indigent et je n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe, ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime.

Reconnaissant envers mes Maîtres, je tiendrai leurs enfants et ceux de mes confrères pour des frères, et, s'ils devaient apprendre la médecine ou recourir à mes soins, je les instruirais et les soignerais sans salaire ni engagement.

Si je remplis ce serment sans l'enfreindre, qu'il me soit donné de jouir heureusement de la vie et de ma profession, honoré à jamais parmi les hommes. Si je le viole et que je me parjure, puissé-je avoir un sort contraire.

LU ET APPROUVÉ :

Le Président du Jury,

R. DARGET

VU :

Bordeaux, le 22 octobre 1948.

Le Doyen,

R. DUPERIE.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Bordeaux, le 26 octobre 1948,

Le Recteur,

A. MARCHAUD.

BIBLIOGRAPHIE

1. J. Roche et J. Courtois. — *Exp. Ann. Biochim. Méd.*, p. 220, 1944.

2. J. Roche, L. Cornil, G. Désruisseaux, Nicole Baudoin et Suzanne Long. — *C. R. Soc. Biol.*, t. 141, n° 23-24, p. 1.251, Déc. 47.

3. Robison. — *Biochem. J.*, t. 17, p. 286-93, 1923.

4. Bessay, Lowry and Mary-Jane Brock. — *J. of Biol. Chem.*, July 1946, t. 164, p. 321-329.

5. A. Bodansky. — *J. of Biol. Chem.*, t. 101, p. 93-104, 1933.

6. A. Bodansky. — *J. of Biol. Chem.*, t. 104, p. 473, 1934.

7. Michaélis. — *J. Biol. Chem.*, t. 87, p. 33, 1930.

8. Sureau. — *Bull. Soc. Ch. Biol.*, t. 24, p. 309, 1942.

9. Paget et Vittu. — Thèse de Médecine, Lille, 1938.

10. Paget et Servantie. — Documentation du Biologiste Praticien, N° 2, p. 165, 1947.

11. Freda Herbert. — *The Quaterly J. of Med.*, New Series, Vol. 15, N° 59, p. 22, 1946.

12. King. — Microanalysis in Medical Biochemistry (Churchill ed.), p. 165.

13. E.-J. King and G.-T. Delory. — *Biochem. J.*, t. 33, p. 1.185, 1939.

14. Y. Ohmori. — *Enzymologia*, t. 4, p. 217, 1947.

15. H.-J. Fujita. — *J. de Biochim. du Japon*, t. 30, p. 69, 1939.

16. Freda Herbert. — Lettre personnelle au Docteur Servantie, 13 mai 1948.

17. L. Weill et M.-A. Russel. — *J. Biol. Chem.*, t. 136, p. 9, 1940.

18. B.-S. Gould. — *Arch. Biochem.*, t. 4, p. 175, 1944.

19. Peter et Van Slyke. — Quantitative Clinical Chemestry, p. 665.

20. Beaumont. — Recent Advancies in Medecine (8e édit.), p. 403.

21. Hawk. — Practical Biological Chemestry, p. 665.

22. Sérum Phosphatase Test, Third Revision January 1948, publisched by Paul Lewis Laboratories.

23. Hawk. — Practical Biological Chemestry, p. 816.

24. T.-J. King and A.-R. Armstrong. — *Canadian Medic. Assoc. J.*, t. 31, p. 376, 1934.

25. Huggins and Talalay. — *J. Biol. Chem.*, t. 159, p. 399-410, 1945.

26. J. Gutman. — *J. Am. Med. Ass.*, t. 120, p. 1.112-1.126, 1943.

27. Sullivan, Gutman and Gutman. — *J. Urology*, t. 48, p. 426-58, 1942.

28. E. Lundsteen, T. Vermehren. — Compt. Rend. Trav. Lab., Carlsberg, Ser. Chem., t. 21, p. 147-166, 1936.

29. E. Lundsteen, T. Vermehren. — *Enzymologia*, t. 6, p. 27-32, 1939.

30. Hudson, Brendler, Scott. — *J. Urology*, t. 58, p. 89-92, 1947.

31. Andersh, Szcypinski. — *Am. J. Clin. Path.*, t. 17, p. 571-574, 1947.

32. Suzuki, Yoshimura et Takaishi. — *Tokio Chem. Soc.*, t. 27, p. 1.330-1.342, 1908.

33. Kay. — *Brit. J. Exper. Path.*, t. 10, p. 253-256, 1929.

34. Roberts. — *Brit. Med. J.*, p. 734-738, January 1933.

35. Roberts. — *Brit. J. Exper. Path.*, t. 11, p. 90-95, 1930.

36. Abdull-Fadal et King. — *Biochem. J.*, t. 32, p. 41, 1947.

37. Wolfrom G. et Loiseleur J. — *J. d'Urol.*, t. 53, p. 491, 1946-1947.

38. Servantie L. — *J. Med. Bordeaux*, Septembre 1936.

38bis. Servantie L. — Mém. Acad. Chir., t. 62, n° 27, 1937.

39. Lehman J. — *Nord. Medic.* (Hygiea), t. 25, p. 572-575, 1946.

40. Westerborn A. — *Nord Medic.* (Hygiea), t. 25, p. 567-572, 1946.

41. Chabrol E., Blanchon P., Pelon. — *Sem. des Hôpit. Paris*, t. 21, p. 1.025-1.029, 1945.

42. Drill V.-A., Riggs D.-S. — *J. Biol. Chem.*, t. 162, p. 21-25, 1946.

43. Alessandri H., Ducci R. et H. — *An. Hosp. Salvador*, t. 2, p. 184-199, 1945.

44. Sullivan T.-J., Gutman E.-B., Gutman A.-B. — *J. Urol.*, t. 48, p. 426, 1942.

45. Huggins C., Hodges C.-V. — Cancer. Res., t. 1, p. 203, 1941.

46. Huggins C., Stevens R.-E., Hodges C.-V. — *Arch. Surg.*, t. 43, p. 209, 1941.

47. Watkinson J.-M., Delory G.-E., King E.-J., Haddow A. — *Brit. Med. J.*, t. 2, p. 492, 1944.

48. Herger C.-C., Sauer U.-R. — *J. Urol.*, t. 46, p. 286, 1941.

49. Herger C.-C., Sauer U.-R. — *Surg. Gyn. Obst*. t. 80, p. 128, 1945.

50. Smith E., Mac Lean J.-T. — *Canad. Med. Ass. J.*, t. 49, p. 387, 1943.

51. Sibert. — *J. Méd. de Lyon,* janvier 1948.

52. Wachstein M. — *J. Lab. and Clin. Med.,* t. 31, p. 1-17, 1946.

53. Lundsteen E., Vermehren E., Vermehren M. — *Nord. Med.* (Hospitalsted), t. 12, p. 3.711-3.714, 1941.

54. Wray S. — *Lancet,* t. 1, p. 783-785, 1945.

55. Trafton H., Perkin H.-J. — *Lahay Clin. Bull.,* t. 4, p. 59-63, 1944.

56. Martin A. — *Rev. Soc. Argent. of Biol.,* t. 20, p. 636-643, 1944.

57. Creevy C.-D. — *J. A. M. A.,* vol. 138, p. 412, 9 oct. 1948.

BORDEAUX

"IMPRIMERIE GIRONDINE"

A. L. COLLEVILLE

143, Rue Georges-Bonnac

—

1948